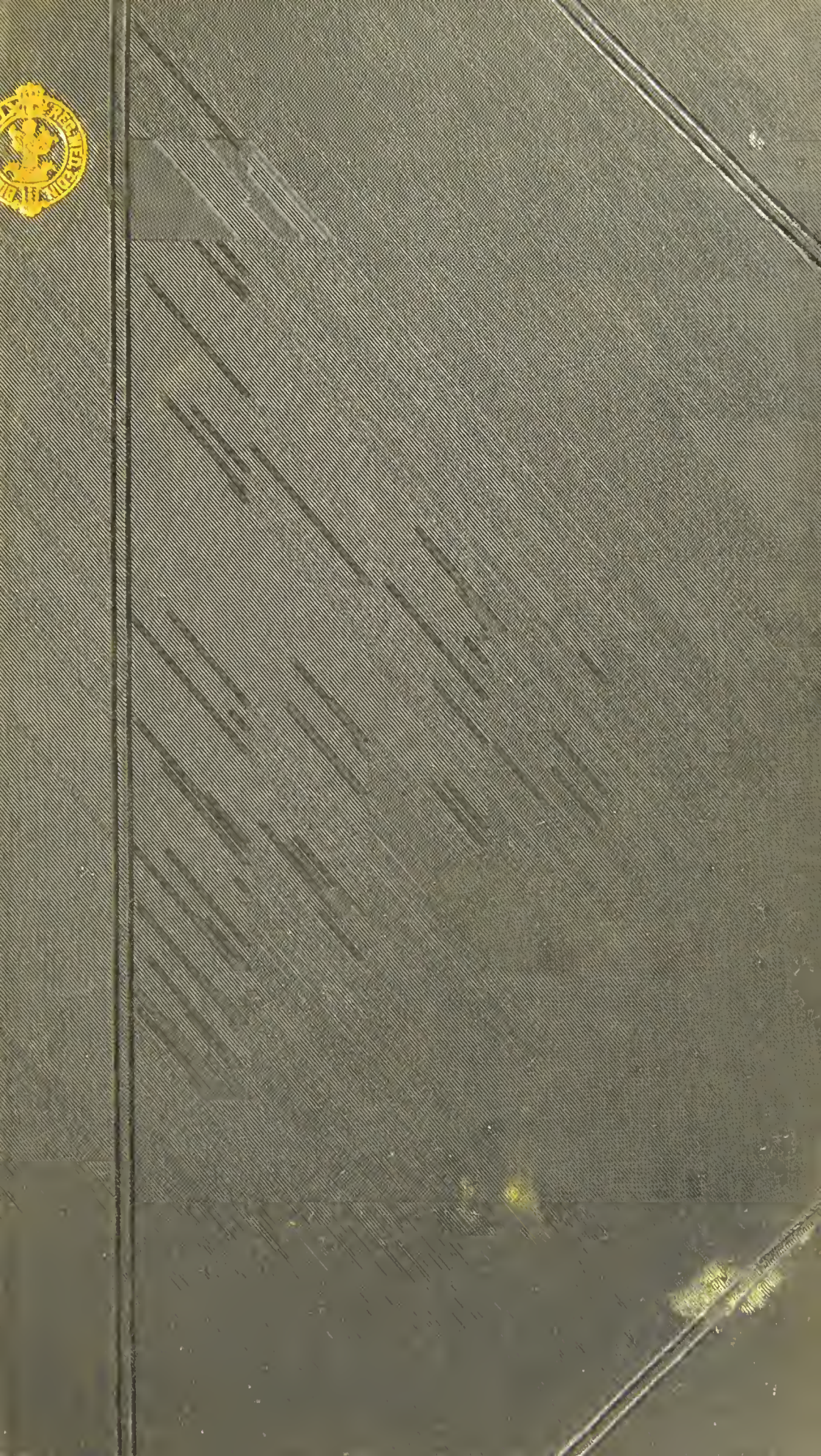

Hc 5. 89

R51586

Digitized by the Internet Archive
in 2015

https://archive.org/details/b21967805

RECHERCHES BACTÉRIOLOGIQUES

SUR

LA FIÈVRE TYPHOÏDE

PAR

le Dr E. MALVOZ,

ASSISTANT D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE ET DE BACTÉRIOLOGIE
A L'UNIVERSITÉ DE LIÉGE.

ROYAL SOCIETY OF PHYSICIANS LIBRARY

PARIS,
Octave DOIN, Éditeur,
8, PLACE DE L'ODÉON, 8.

LIÉGE,
M. NIERSTRASZ, Éditeur,
66, RUE DE LA CATHÉDRALE, 66.

1893

MÉMOIRE

ADRESSE A L'ACADÉMIE ROYALE DE MÉDECINE DE BELGIQUE (CONCOURS POUR LE PRIX ALVARENGA, DE PIAUHY; PÉRIODE DE 1891-1892).

Ce mémoire a obtenu le prix en partage.

Extrait des Mémoires, tome XI, 5e fascicule.

Bruxelles. — Imprimerie de F. Hayez, rue de Louvain, 112.

INTRODUCTION.

Depuis le grand travail de Gaffky, établissant pour la première fois, par la méthode rigoureuse des cultures, la présence au sein des cadavres typhiques d'un bacille à caractères tout particuliers, l'étude bactériologique de la dothiénentérie a été l'objet d'un nombre de travaux tellement considérable, que leur seule énumération forme déjà un des plus vastes chapitres des traités de microbiologie.

La morphologie du microbe de Gaffky, sa topographie au sein des tissus, ses caractères de culture, ses propriétés biologiques ont été tour à tour étudiés par de nombreux observateurs, et il serait injuste de méconnaître l'incomparable parti que la pathologie et l'hygiène ont su tirer de ces importantes données.

Cependant, malgré les nombreux points nouveaux dont l'étude de la fièvre typhoïde s'est enrichie, il reste un ensemble de questions dont la solution est très loin d'être fournie.

Ces questions ne sont malheureusement pas, pour la théorie microbienne du typhus abdominal, d'ordre secondaire : il en est qui sont d'essence tout à fait doctrinale, au point qu'elles mettent en question la spécificité même du microbe découvert par Eberth et si bien décrit par Gaffky.

C'est qu'après avoir été longtemps admise, presque sans conteste peut-on dire, l'identité spécifique du bacille de Gaffky est aujourd'hui battue en brèche par des observateurs qui ont assez d'autorité en microbiologie pour que leur opinion mérite d'être écoutée. Se basant sur les grandes ressemblances que le microbe de Gaffky présente

avec un parasite normal de l'intestin, le « bacterium coli commune » d'Escherich, deux savants lyonnais, Rodet et Roux, vont jusqu'à identifier ces deux espèces, et ils mettent sur le compte de variations de milieu ou de virulence les différences observées entre les deux micro organismes.

Cette théorie, on le conçoit, porte une grave atteinte à la spécificité du bacille considéré encore généralement comme l'agent de la fièvre typhoïde; elle menace même son individualité.

Le débat introduit récemment à l'Académie de médecine de Paris, entre les partisans de la spécificité absolue du microbe de Gaffky et les savants qui soutiennent la thèse opposée, a eu un grand retentissement dans le monde scientifique : malgré le grand nombre des faits produits et des arguments invoqués, on ne peut pas dire que la question soit sortie résolue des discussions auxquelles les communications des savants lyonnais ont donné naissance.

La discussion reste ouverte, et cette étude, en raison de la haute importance des questions en jeu et de l'autorité de ceux qui s'en occupent, forme un des chapitres les plus attrayants actuellement à l'ordre du jour des recherches bactériologiques.

C'est à la solution de quelques-uns des problèmes soulevés par la question de la spécificité du bacille de Gaffky que nous avons consacré les recherches exposées dans ce mémoire et effectuées en partie au laboratoire, en partie à la table d'autopsies.

L'ordre suivi dans l'exposé de nos résultats correspond à la série des questions que nous nous sommes successivements posées :

Quelles sont les propriétés biologiques du bacille de Gaffky?

Quelles affinités présente-t-il avec le « bacterium coli commune » ?

Est-il possible de supprimer, par l'un ou l'autre artifice, les caractères différentiels existant entre ces agents parasitaires?

Quels sont les microbes observés dans la fièvre typhoïde?

Peut-on rencontrer des organismes semblables ou plus ou moins voisins dans d'autres affections?

Quel est, d'après ces constatations, l'état actuel de la théorie microbienne de la fièvre typhoïde?

RECHERCHES BACTÉRIOLOGIQUES

SUR

LA FIÈVRE TYPHOÏDE [1]

L'habitude d'une opinion produit souvent une conviction complète de sa justesse; elle en cache les parties faibles et rend incapable d'apprécier les preuves contraires.

BERZELIUS.

(*Traité de chimie*, 1831, t. IV, p. 555.)

I.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DU BACILLE DE GAFFKY ET DU « BACTERIUM COLI COMMUNE ».

Pour cette étude, nous nous sommes servi de cultures pures et fraîchement préparées de bacilles de Gaffky issus d'une culture qui avait été envoyée très obligeamment de Giessen à notre maître, M. le Dr Firket, par M. le professeur Gaffky lui-même; nous avons étudié comparativement des cultures provenant d'un typhique à la période d'état; enfin, le « bacterium coli commune » avait été prélevé dans les matières fécales de nourrisson.

A. — **Morphologie et coloration.**

Au point de vue microscopique, le bacille de Gaffky est très divers d'apparences : c'est un organisme très polymorphe.

La forme décrite par Gaffky est cependant la plus habituelle : c'est un petit bâtonnet, ayant de 3 à 4 μ de long et 0,4 à 0,5 μ

(1) Mémoire déposé le 30 janvier 1892.

de large, à bouts arrondis (organes typhiques, cultures sur gélatine et gélose).

Mais cette forme est loin d'être constante. Déjà, dans une même culture et souvent aussi au sein d'une même colonie, on observe des microbes d'aspects bien différents : tantôt le parasite est tellement court qu'il a plutôt l'aspect d'un coccus ovoïde, tantôt il s'est allongé au point qu'il constitue un filament grêle de 20 et 30 μ de long et parfois même davantage. C'est surtout en faisant varier les conditions de culture que l'on peut constater ces différences. Ainsi, sur tranches de pommes de terre stérilisées, le microbe s'allonge, bien qu'à côté des formes longues se trouvent encore des bacilles grêles et petits. En bouillon alcalin, le micro-organisme est plutôt gros et trapu ; sur lait, nous avons observé le plus régulièrement des formes longues et épaisses.

Toutes ces variations morphologiques du microbe de Gaffky sont aujourd'hui bien connues et longuement décrites dans les traités classiques.

Pour notre part, nous avons observé un exemple très net de pléomorphisme de ce micro-organisme en étudiant comparativement des cultures ensemencées sur gélatine au moyen de bacilles soumis plus ou moins longtemps à l'action de l'acide phénique dans des bouillons maintenus à 42 degrés. (Voir plus loin.)

Ainsi, la culture issue du bouillon phéniqué, resté huit jours à l'étuve à cette température, montrait de petits bâtonnets courts, mobiles, tandis que dans le dépôt formé sur gélatine par les bacilles ayant séjourné un mois dans ce bouillon, on voyait des microbes filamenteux, excessivement allongés, rappelant par leur longueur certains filaments charbonneux, mais plus grêles que ces derniers.

Nous avons vu constamment des bacilles bien différents de la forme habituelle en cultivant le microbe de Gaffky dans un milieu un peu spécial, la gélatine à l'eau de malt, que nous avons appliquée pour la première fois à l'étude de ce microbe. Dans ces cultures, le bacille s'allonge et s'épaissit considérablement : ce sont de véritables bacilles « en boudin » que l'on observe, et si l'on colore ces microbes, on distingue, plus fréquemment que dans les conditions habituelles, des zones colorées et des points qui ont échappé à l'action de la matière colorante.

Tous ces caractères se retrouvent chez le « bacterium coli

commune »; tout au plus pourrait-on dire qu'en général le « bacillus coli » se présente comme un peu plus court et plus épais que le microbe de Gaffky; mais ce caractère est extrêmement variable. Bien souvent, et alors que l'on s'est placé dans des conditions en apparence identiques, on obtient des bacilles de Gaffky courts et épais, et des bacilles côliens longs et grêles.

Le bacille de Gaffky et celui d'Escherich se colorent très bien par la fuchsine phéniquée de Ziehl : c'est ce bain colorant qui nous a fourni les plus belles préparations, et que nous avons employé régulièrement dans toutes nos recherches. On sait que ces microbes ne se colorent pas par la méthode dite de Gram.

A la suite de l'action des couleurs d'aniline, on observe assez souvent que les bacilles ne prennent pas partout la matière colorante : il persiste un centre clair entre deux pôles colorés. On a voulu, pendant un certain temps, considérer cet espace clair central comme particulier au microbe de Gaffky (Artaud). Cette observation présente à peine un intérêt historique : on sait qu'un très grand nombre de microbes d'espèces très différentes offrent ce caractère.

Ces espaces clairs ont été pris par certains observateurs pour des *spores*. Buchner (1) a montré qu'il s'agissait là de vacuoles dues à la rétraction du protoplasme, à une sorte de dégénérescence partielle du microbe : ces bacilles résistent moins à la dessiccation que les microbes non vacuolés.

Quant à la spore du bacille décrite par Gaffky comme siégeant à l'extrémité des bâtonnets ensemencés dans certains milieux de culture, son authenticité a été combattue, avec des arguments décisifs, semble-t-il, par Buchner et Pfühl (2) notamment; il paraît bien démontré qu'il est impossible de considérer ces éléments comme des spores proprement dites.

Vacuoles et prétendues spores se retrouvent chez le coli-bacille aussi bien que chez le microbe de Gaffky.

Mobilité. — On sait que l'examen des microbes à l'état vivant fournit souvent des renseignements très précieux pour le diagnostic. Cet examen se pratique assez facilement en délayant

(1) Buchner. *Centralblatt für Bakteriologie*, 1888, Nr 12.
(2) Pfühl. *Ibid.*, Novemb. 1888.

une parcelle de culture dans une goutte d'un liquide dit indifférent, déposée sur une lamelle couvre-objet : celle-ci est placée sur porte-objet excavé en son centre. C'est l'examen dit « en goutte pendante ».

Le bacille de Gaffky se présente, en général, comme un microbe mobile, et les mouvements qu'il affecte sont de deux ordres : un mouvement d'oscillation ou de vibration autour d'un même axe, et un mouvement de déplacement rapide dans le champ du microscope; mais ces caractères s'observent surtout chez les formes courtes. Les bacilles filamenteux ont des mouvements beaucoup moins rapides : il s'agit plutôt d'une sorte de reptation ondulatoire.

Quel que soit le milieu dans lequel nous ayons prélevé le microbe de Gaffky, nous avons observé ces mouvements : nous n'avons jamais vu, dans les conditions de nos préparations (examen en eau salée à 0,75 °/₀, stérilisée), de ces microbes privés de mouvements, immobiles comme les bacilles du charbon virulent, par exemple.

Mais nous avons remarqué — et les auteurs ne nous paraissent pas avoir insisté suffisamment sur ces particularités — des différences souvent notables dans l'intensité des mouvements, *et cela pour des microbes de mêmes dimensions*, suivant une foule de circonstances, telles que l'origine de la culture, son âge, sa nature, etc. Bien souvent nous avons vu des microbes de Gaffky courts et grêles, fort peu mobiles : on assigne cependant, dans les ouvrages classiques, une mobilité très grande à ces microbes.

Le « bacterium coli » appartient, lui aussi, au groupe des microbes mobiles. On a invoqué parfois la différence dans l'intensité des mouvements manifestés par le bacille de Gaffky et le coli-bacille comme un bon signe différentiel entre ces deux parasites. A la suite de l'observation de centaines de cultures de l'un et l'autre de ces microbes (voir, plus loin, nos recherches sur les cadavres), nous sommes arrivé à la conviction qu'il serait absolument dangereux de vouloir, sur un signe aussi variable que la mobilité, fonder un diagnostic certain entre les microbes qui nous occupent. Bien souvent nous avons vu des bacilles du côlon (nettement caractérisés comme tels sur les divers milieux de culture), beaucoup plus mobiles que des microbes de Gaffky obtenus dans des conditions en apparence identiques.

C'est que tous ces caractères de mobilité — comme la plupart des signes de cet ordre, du reste — sont extrêmement contingents. Quand on a lu les belles recherches de Wladimiroff (1), de Massart (2), etc., concernant l'influence des concentrations des solutions salines sur la mobilité des micro-organismes, et l'extrême sensibilité de cette dernière aux moindres variations du milieu, on reste bien convaincu que ce phénomène est aussi varié dans ses manifestations que les conditions elles-mêmes des cultures microbiennes. Des changements très minimes dans la concentration des solutions influent sur l'activité des mouvements; or, quand on prélève un fragment de culture microbienne pour le diluer dans la goutte pendante, on obtient un liquide tout aussi variable que la composition des cultures habituellement employées en bactériologie. Il n'est pas étonnant, dès lors, que la mobilité d'un même microbe se manifeste de façons très variées.

Cils. — Un caractère morphologique d'une certaine importance est la présence de *cils*, signalée par Löffler chez le bacille de Gaffky. C'est à l'aide d'une technique toute spéciale que cet habile observateur a étudié, chez un grand nombre de bactéries, ces prolongements extrêmement grêles du corps protoplasmique, auxquels seraient dus, précisément, les mouvements propres des micro-organismes. Le bacille de Gaffky présente plusieurs flagella très fragiles.

Mais, pour constater ces cils, il faut une technique très délicate. Nous les avons recherchés chez le bacille de Gaffky et le colibacille. Nous avons suivi, point par point, la méthode proposée par Löffler (3) : préparations soumises à l'action d'un mordant composé de sulfate ferreux, tannin et décoction de bois de campêche, puis d'une matière colorante préparée avec de la fuchsine en eau anilinée (100 grammes), à laquelle on ajoute 1 centimètre cube de solution d'hydrate sodique à 1 °/₀. Nous avons, suivant la recommandation des auteurs, cherché ces cils chez le bacille de Gaffky

(1) Wladimiroff. *Osmotische Versuche an lebenden Bakterien.* (*Zeitschrift für physikalische Chemie, d'Ostwald,* Bd VII, H. 6, 1891.)

(2) Massart. *Recherches sur les organismes inférieurs.* (*Bulletin de l'Académie royale des sciences de Belgique,* 1891. nº 8.)

(3) Löffler. *Eine neue Methode zum Färben der Mikroorganismen.* (*Centralblatt für Bakteriologie,* Bd VI, 1889, S. 213.)

pris dans des cultures très jeunes, sur gélose ayant séjourné six à sept heures seulement à 37°.

Nous avouons n'avoir pas réussi à distinguer ces éléments, malgré des tentatives répétées. Les auteurs qui ont étudié ces cils reconnaissent d'ailleurs l'extrême difficulté de la recherche. Peut-être notre hématoxyline n'avait-elle pas les qualités nécessaires ; peut-être notre objectif ($^1/_{48}$ immersion homogène de Zeiss) était-il insuffisant pour ces constatations, réclamant les nouvelles lentilles apochromatiques (1).

Quoi qu'il en soit, si même il était démontré que le bacille de Gaffky se distingue du « bacterium coli » par la présence de cils, serait-on autorisé à séparer complètement ces deux microbes, d'après ce seul caractère? Nous ne le pensons pas, précisément parce que l'on manque complètement, à l'heure actuelle, de connaissances précises sur la signification de ces cils et les conditions de leur apparition comme de leur absence (2).

B. — Cultures du microbe de Gaffky et du « bacterium coli commune ».

Nous passerons successivement en revue les caractères des cultures de ces microbes, ensemencés dans les milieux nutritifs usuels des laboratoires.

1° Cultures sur gélatine nutritive alcalinisée.

a. *Cultures sur plaques.* — Les colonies du microbe de Gaffky, tant qu'elles restent enfouies dans la profondeur de la gélatine, apparaissent comme de petits disques, d'un blanc-jaunâtre à l'œil

(1) Depuis le dépôt de ce travail (janvier 1892), il a paru quelques notes dues à divers auteurs et concernant la présence des cils chez les microbes qui nous occupent. Il semble en résulter que des cils s'observent, dans certaines circonstances, chez l'un et l'autre microbe, mais le bacille de Gaffky posséderait plus de flagella que le « coli bacterium ». Il n'y aurait donc, au point de vue des cils, qu'une différence *quantitative* entre les deux microparasites; il est inutile d'insister sur l'importance très relative de tels signes morphologiques, au point de vue du diagnostic.

(2) Ali-Cohen a proposé récemment d'utiliser les *propriétés chimiotaxiques* dans le but de séparer le bacille de Gaffky des diverses espèces banales auxquelles il peut se trouver mélangé. Il utilise le suc de pommes de terre, réparti en tubes capillaires. Ce liquide présente la propriété d'attirer fortement le microbe de Gaffky.

Si intéressantes que soient ces constatations, elles se rattachent à un ensemble de recherches à peine ébauchées, et trop incertaines encore pour que leurs résultats fournissent des données applicables au diagnostic *pratique* du bacille de Gaffky.

nu, d'un jaune un peu verdâtre à un faible grossissement; le contour est très nettement circulaire; on distingue parfois dans la colonie des zones concentriques et des stries radiées.

Les colonies superficiellement placées sont plus intéressantes à étudier : souvent, elles offrent certaines particularités que l'on a cru pendant longtemps spéciales au microbe de Gaffky.

On voit, après trois ou quatre jours, à la surface de la gelée, des colonies très minces, pelliculaires, de 2 à 3 millimètres de diamètre, irrégulièrement circulaires, à bords ondulés ou festonnés; ces colonies sont presque transparentes, nacrées, d'une teinte bleuâtre souvent irisée. En examinant la colonie à un faible grossissement, on distingue nettement qu'elle est parcourue par des sillons disposés de diverses façons, souvent comme les nervures d'une feuille, et après l'interposition d'un diaphragme à trois branches entre le miroir et la plaque, on voit que la colonie prend l'aspect d'une « montagne de glace ».

C'est là la variété dite *transparente* du microbe de Gaffky. Elle est loin d'être pathognomonique de ce bacille : le « bacillus coli » forme souvent des colonies de cet aspect, et d'autres microbes encore, tels que le « bacillus Janthinus » de Zopf, le « bacillus fluorescens putidus » aux débuts, etc.

Mais le microbe de Gaffky, tout comme le « bacterium coli », peut se développer sur les plaques de gélatine d'une toute autre façon. Il arrive parfois que la colonie superficielle reste petite, blanchâtre, plus ou moins épaisse, nettement circulaire, comme arrêtée dans sa tendance à s'étaler sur la gelée. Certaines de ces variétés rentrent dans le groupe des variétés dites *opaques* de ces microbes.

Entre la variété transparente et la variété opaque, existe toute une série d'aspects intermédiaires, et bien souvent on passe de l'une à l'autre avec la plus grande facilité.

Voici un exemple des variations observées dans l'aspect des colonies d'un même microbe.

Nous avons pris une culture de « bacillus coli » en bouillon alcalinisé, laissée trois mois à 18°, et une culture du même microbe, de même âge, mais ensemencée sur gélatine ordinaire; le dépôt était, dans cette culture, desséché et ratatiné. Nous avons fait des ensemencements sur plaques, dans les mêmes conditions, de ces deux cultures.

Après trois jours, les plaques présentaient des différences frappantes.

Les colonies issues du bouillon montraient le plus nettement l'aspect

typique de la variété transparente, largement étalée, formée par un bacille grêle, très mobile (plus mobile même qu'un bacille de Gaffky). Au contraire, dans les plaques ensemencées avec le microbe pris sur vieille gélatine, les colonies superficielles, bien que moins abondantes encore que sur les plaques issues du bouillon, étaient restées complètement circulaires, petites, peu étalées, opaques; au microscope, pas de sillons visibles dans la masse. Ces colonies étaient formées par un microbe plus court, plus trapu, moins mobile que les précédents.

L'aspect des plaques ne s'est guère modifié par la suite.

Chose curieuse, la variété opaque, transportée ultérieurement sur gélatine, a donné surtout des colonies fines et transparentes.

Nous avons observé souvent aussi que les colonies du microbe de Gaffky, comme celles du coli-bacille, restaient particulièrement petites, circulaires, sans tendance à l'étalement, quand, dans une plaque de culture, ces colonies étaient en trop grande abondance, trop serrées l'une près de l'autre. Et alors, on est surpris de trouver, dans une plaque de même origine mais ensemencée avec beaucoup moins de microbes, de grandes colonies très largement étalées sur la gelée, atteignant jusque 1 centimètre et plus de diamètre. Il faut admettre que là où les colonies sont serrées, confluentes, les produits de sécrétion des bactéries arrêtent la croissance des colonies voisines.

Il est indispensable, quand on se livre à l'étude de ces espèces microbiennes, de connaître à fond toutes ces particularités et ces modalités d'aspect de leurs colonies : sinon, on s'exposerait à méconnaître souvent des colonies appartenant bien réellement au microbe de Gaffky ou au coli-bacille, malgré leurs différences avec l'aspect habituel.

Il n'existe guère, disons-nous, de différences entre le bacille de Gaffky et celui d'Escherich, observés en cultures sur plaques de gélatine. Tout au plus pourrait-on dire qu'en général le bacille côlien se développe un peu plus rapidement.

Mais si l'on voulait établir un diagnostic d'après des caractères tirés du développement plus ou moins rapide des colonies, on s'exposerait aux plus graves erreurs. Certains bactériologistes sont cependant entrés dans cette voie.

C'est ainsi, pour ne citer qu'un seul exemple, que Wiltschour (1), trouvant dans les organes d'un typhique quelques colonies microbiennes, offrant les caractères généraux du bacille de Gaffky, mais manifestant de légères différences dans la rapidité du développement en gélatine, n'hésite pas à en faire autant d'espèces parasitaires distinctes !

(1) *Centralblatt für Bakteriologie*, Bd. VII, 1890, p. 279.

Les différences que nous avons notées dans l'aspect des cultures suivant diverses conditions ont montré l'extrême variabilité du développement de ces microbes : les apparences que prennent leurs colonies sont sous la dépendance d'une foule de facteurs, en général mal déterminés encore. Voici un nouvel exemple de cette diversité d'aspects.

En ensemençant sur plaques de gélatine la même quantité prélevée dans des bouillons alcalins ayant séjourné l'un à la température ordinaire, et l'autre à l'étuve à 42° (bouillons de bacilles de Gaffky), pendant dix jours, nous avons obtenu, dans les cultures issues de ces derniers bouillons, des colonies étalées, de dimensions très considérables, ayant plus de 1 centimètre de diamètre, tandis que les plaques issues du bouillon cultivé à une température fort inférieure, montraient des colonies ayant à peine les dimensions d'une tête d'épingle (les plaques contenaient, à très peu près, le même nombre de colonies.)

Des différences aussi prononcées dans le développement des colonies s'observent encore quand on compare des plaques ensemencées les unes avec des bouillons abandonnés pendant quelques jours, et les autres avec des bouillons réensemencés successivement de vingt-quatre heures en vingt-quatre heures à l'étuve à 37°. Les colonies obtenues sur les plaques à bacilles issus des bouillons incessamment renouvelés atteignent des dimensions cinq à six fois plus considérables, toutes choses égales d'ailleurs, que les autres.

b. *Cultures en tubes de gélatine alcalinisée.* — Si l'on cultive le microbe de Gaffky et le coli-bacille dans des tubes de gélatine, par inoculation en strie ou en piqûre, on retrouve les variétés déjà observées sur les plaques · tantôt la culture apparaît comme largement étalée à la surface du milieu, formant une mince couche, à bords festonnés, à dessins variés, s'arrêtant à peu de distance des parois du tube, tantôt la culture reste étroite, mais épaisse. Entre ces deux types, existent une foule de formes intermédiaires.

Le long de la pointe d'enfoncement, pour les cultures en piqûre, on voit des colonies lenticulaires, un peu jaunâtres, disposées parfois comme les dents d'une scie ; après un certain temps, la gélatine prend une coloration jaune brunâtre, qui va se fonçant de plus en plus au contact de ces colonies. Parfois des

cristaux (précipitation de phospates) apparaissent dans la gélatine.

Seitz a attribué la différence d'aspect des cultures sur gélatine à la plus ou moins grande alcalinité du milieu. Mais nous avons noté souvent des variétés très diverses, issues d'une même culture, et développées sur de la gélatine de même réaction.

On sait que le microbe de Gaffky et celui d'Escherich ne liquéfient pas la gélatine.

Chantemesse et Widal ont montré, les premiers, que si l'on détache avec la spatule de platine le dépôt d'une culture en strie du bacille de Gaffky, pour ensemencer ensuite avec de nouveaux microbes l'endroit de la culture, on n'observe plus aucun développement : toute la partie de la gélatine, primitivement envahie, est devenue réfractaire à la culture de ce microbe.

Mais ce caractère, suivant Macé (1), est très banal : on l'observe chez un grand nombre d'espèces microbiennes.

2° Cultures sur gélose nutritive alcalinisée.

Sur ce milieu, le microbe de Gaffky et le coli-bacille prolifèrent abondamment : on observe un dépôt crémeux étendu sur la surface de la gelée. Mais si la gélose fournit d'excellents résultats quand, par exemple, on veut obtenir rapidement des bacilles en culture pure, ces cultures n'offrent rien de spécial au point de vue du diagnostic.

Gasser a préconisé, pour la distinction du bacille de Gaffky, la gélose fuchsinée. Nous avons préparé ce milieu en suivant les indications de l'auteur (2) : nous avons observé, comme lui, que le bacille de Gaffky prolifère énergiquement dans ces conditions, en décolorant le milieu tout autour du dépôt qu'il forme. Mais le « bacterium-coli » donne sur la gélose fuchsinée, à bien peu de chose près, les mêmes caractères de culture.

C'est pour ces raisons que cette méthode s'est peu généralisée, pas plus que le procédé compliqué de Nœgerrath (3).

D'ailleurs, des expériences récentes de Legrain (4) sur la culture

(1) *Traité de bactériologie*, 2e éd., p. 427.

(2) GASSER. *Archives de médecine expérimentale*, novembre 1890, p. 750.

(3) NOEGERRATH. *Fortschritte der Med.*, Bd. VI, Nr. 1, 1888.

(4) LEGRAIN. *Contribution à l'étude de la culture des bactéries sur les milieux colorés.* (*Annales de l'Institut Pasteur*, novembre 1891.)

des bactéries en milieux colorés ont montré que cette décoloration provoquée par le coli-bacille et le microbe de Gaffky dépend d'une propriété commune à beaucoup de micro-organismes : elle serait due à la production par les microbes d'une substance alcaline déplaçant la matière anilinique incolore, de son sel coloré.

3° Cultures sur pommes de terre stérilisées.

Un des caractères le plus fréquemment invoqués comme élément de diagnostic du microbe de Gaffky, est l'aspect des cultures sur pommes de terre.

Suivant les auteurs classiques, ces cultures, dans les premiers jours, ne montrent pas de dépôt apparent : la surface de la pomme de terre paraît humide et brillante; en râclant celle-ci, on détache une sorte de matière muqueuse fourmillant de bacilles mobiles. Ce n'est qu'après un temps très long que l'on arrive à distinguer sur la tranche une mince couche jaunâtre.

En raison de l'importance assignée aux caractères de la culture du microbe de Gaffky sur pommes de terre, nous nous sommes imposé la tâche d'étudier de très près ces particularités.

Méthode. — Le meilleur procédé, nous a-t-il paru, pour ce genre de recherches, est la culture en « tubes de Roux » : ceux-ci sont de grands et larges tubes, fermés d'un côté, présentant, à quelques centimètres du fond, un léger étranglement destiné à retenir la tranche du tubercule; on bouche à l'ouate. Pendant la stérilisation, il se dépose un peu d'eau dans le fond du tube, dont l'humidité est ainsi assurée.

Aux débuts de nos recherches, nous stérilisions les pommes de terre, en une séance, à 120°; mais les tranches ainsi préparées sont d'une coloration brunâtre, qui ne permet pas d'observer certains détails de culture.

Il vaut beaucoup mieux se servir de pommes de terre en tubes de Roux stérilisées à 100° seulement, mais en plusieurs séances d'une demi-heure chaque jour : de cette façon, la pomme de terre reste bien blanche.

La meilleure façon d'observer les caractères classiques du bacille de Gaffky sur pommes de terre, est *le séjour des cultures à 18-20° et sur milieux à légère réaction acide.* Nos pommes de terre (de la

variété dite « plate ») présentaient cette réaction. [Quand la pomme de terre n'est pas acide, on la rend telle par l'addition d'un peu d'acide acétique à $^1/_4$ %, suivant la recommandation de Karlinski (1)].

Dans les conditions sus-indiquées, on observe le mieux l'aspect dit « glacé » des cultures du microbe de Gaffky ; à 37°, on voit, au contraire, un léger dépôt.

Mais cet aspect est loin d'être constant. C'est ainsi que les ensemencements de la culture du bacille que nous avons reçu du professeur Gaffky ont fourni des caractères un peu différents. Ces cultures, maintenues à 18°-20°, après avoir été ensemencées avec du bouillon jeune de bacilles, ont montré les particularités suivantes (2) :

Caractères. — Après deux jours, on distingue dans le tiers inférieur de la tranche (maintenue verticalement) un très léger dépôt grisâtre, un peu jaunâtre, le long du trait d'ensemencement, fort peu étendu en dehors de celui-ci ; ce dépôt est formé par la confluence de petites colonies un peu saillantes; le restant de la tranche est d'aspect très humide. Des bacilles se retrouvent non pas seulement dans le dépôt central, mais jusqu'à la périphérie de la pomme de terre.

Après quatre jours, le dépôt est devenu plus visible et plus large : c'est une couche jaune-brunâtre luisante, surtout développée dans les parties déclives, mais commençant à se montrer vers le haut, le long de la strie d'ensemencement.

Les jours suivants, ces caractères s'accentuent de plus en plus; après dix jours, on voit une grande partie de la tranche envahie par un dépôt jaunâtre, mince, il est vrai, mais bien reconnaissable.

Dans les mêmes conditions, la culture du « bacterium coli commune », pris récemment dans les matières fécales, fournit une couche beaucoup plus abondante : après trois ou quatre jours, toute la tranche de pomme de terre est envahie par une véritable purée luisante jaune-grisâtre ou jaune brunâtre. On verra plus

(1) KARLINSKI. *Centralbl. für Bakteriologie*, 9-733.

(2) Nous avons toujours ensemencé ces cultures sur pommes de terre — et nous ne nous sommes pas départi de cette règle dans tout le cours des recherches qui font l'objet de ce mémoire — en pratiquant une strie d'un bout à l'autre de la tranche, au centre de celle-ci; les tubes étaient maintenus verticalement, et non pas inclinés.

loin que le bacille d'Escherich ne fournit pas toujours une culture aussi abondante sur pommes de terre.

D'autre part, le microbe de Gaffky peut donner, dans certaines conditions, une couche épaisse sur pommes de terre. Buchner a obtenu ce résultat par l'alcalinisation préalable des tubercules; nous avons constaté qu'il en était de même quand on prélevait les bacilles dans un bouillon maintenu huit à dix jours à 42°; dans ces conditions, les cultures que nous avons obtenues ne rappelaient nullement l'aspect classique d'une couche glacée : c'était un dépôt très net, jaunâtre, assez épais, qui s'étalait sur presque toute la pomme, bien que celle-ci, de réaction acide, fût laissée à la température de 18°.

Il résulte de ces observations, faites du reste par d'autres auteurs, tels que Babes (1), Balfanti (2), etc., que, même sur pommes de terre acides à la température ordinaire, *le microbe de Gaffky est loin de fournir constamment cet aspect si souvent décrit d'une simple couche humide, glacée.*

Nous savons bien que ces différences d'aspect des cultures sur pommes de terre du bacille de Gaffky ont été signalées même par les plus chauds partisans de la spécificité du microbe, tels que Chantemesse et Widal.

Mais, trop généralement, l'opinion est répandue que ce micro-organisme présente, comme un de ses caractères les plus constants, cet aspect de culture glacée sur pommes de terre. Il en résulte que bien souvent on méconnaît la présence du microbe de Gaffky là où il existe très manifestement : en effet, bien des observateurs, voyant un bacille dont les caractères morphologiques rappellent le bacille typhique, mais fournissant un dépôt plus ou moins abondant sur pommes acides, ne poussent pas plus loin les investigations, et concluent à la non-identité du microbe observé avec le micro-organisme de Gaffky.

On verra plus loin combien peu l'on a tenu compte des conditions défavorables où l'on place les bacilles dont nous nous occupons, quand on les fait proliférer sur des pommes de terre à réaction acide.

(1) Babes. *Ueber Varietäten der Typhusbacillus.* (*Zeitschrift für Hygiene,* Bd. IX, S. 330 u. 331.)

(2) Balfanti. *L'infezione tifosa.* (*Rivista italiana di clinica medica,* 1890, n° 20, p. 486.)

D'un autre côté, l'aspect dit classique de la culture de Gaffky sur pommes de terre, est loin d'être aussi particulier à ce bacille qu'on l'a cru pendant longtemps. C'est ainsi que Babes et Pfuhl (1) ont trouvé des microbes différents du bacille typhique de Gaffky, se développant sur la pomme de terre comme ce dernier.

Würtz et Leudet (2) ont observé la « glaçure » aux débuts de la culture du ferment lactique sur pommes de terre.

Rœser (3) a décrit également des cultures du même genre.

Il résulte des considérations précédentes, que si la culture du microbe de Gaffky sur pommes de terre est un élément utile pour la caractérisation de ce microbe, on ne doit pas exagérer l'importance de ce criterium, dont la valeur est bien moins considérable qu'il n'avait paru aux débuts des études bactériologiques.

Gélatine au suc de pomme de terre. — Nous n'avons pas cru devoir essayer la gélatine au suc de pomme de terre préconisée par Holz pour la recherche du bacille de Gaffky : l'emploi de ce milieu, s'il offre quelques légers avantages, ne permet pas, en tout cas, de découvrir des particularités échappant aux autres méthodes de recherche.

4° Cultures en bouillons alcalins.

Le bacille de Gaffky prolifère abondamment en bouillon alcalin. (Nous avons employé régulièrement, pour cette culture, le bouillon de veau peptonisé.)

Les bouillons, laissés deux jours à 37°, deviennent fortement troubles dans toute leur masse, et au fond du tube on voit une sorte de précipité blanchâtre, assez difficile à déplacer par agitation. Dans les bouillons non sucrés, la réaction ne devient pas acide ; l'odeur est un peu fade.

(1) Babes. *Ueber Variabilität des Typhusbacillus.* (*Zeitschrift für Hygiene*, 1890, Bd. IX, S. 325.)

(2) Würtz et Leudet. *Recherches sur l'action pathogène de l'acide lactique.* (*Archives de médecine expérimentale*, 1er juillet 1891, p. 488.)

(3) Rœser. *Archives de médecine expérimentale*, 1890, n° 1, p. 139.

Le coli-bacille fournit les mêmes caractères, avec cette différence que ce microbe semble prospérer plus abondamment encore dans les bouillons; l'odeur paraît aussi plus prononcée, parfois même fécaloïde.

Quand on laisse vieillir à l'étuve les bouillons de ces microbes, ils prennent une coloration brunâtre qui va s'accentuant de plus en plus.

On verra plus loin les tentatives que nous avons faites pour isoler les substances actives de ces bouillons.

C'est au moyen des cultures sur bouillon que l'on peut obtenir une réaction des plus utiles à constater pour la diagnose du bacille de Gaffky avec la bactérie d'Escherich : la réaction dite « de l'indol ».

Réaction de l'indol. — Si l'on ensemence, au moyen de bacilles côliens, 10 centimètres cubes de bouillon peptonisé alcalin, que l'on abandonne à l'étuve à 37°, on constate, déjà le lendemain, qu'il se produit par l'addition de 1 centimètre cube de nitrate potassique (en solution à 0,^{gr}02 °/₀) et de quelques gouttes d'acide sulfurique une couleur rosée ou rouge. Dans ces conditions, la culture du bacille de Gaffky ne présente pas cette coloration.

C'est Kitasato (1) qui a le premier insisté sur l'importance de ce criterium comme élément de diagnostic et fourni, dans ce but, les indications précédentes.

Nous avons répété l'expérience de Kitasato, en suivant scrupuleusement sa technique (addition de *nitrate* (2) de potasse dans les proportions sus-indiquées et de quelques gouttes d'acide sulfurique). A notre grande surprise, nous n'avons pas obtenu la couleur rose avec la culture du bacille d'Escherich.

Nous nous sommes souvenu alors des conditions dans lesquelles apparaît cette réaction avec le bacille-virgule du choléra : celui-ci fabrique dans les cultures un nitrite qui, décomposé par un acide, agit sur l'indol et donne le « Choléra-roth ». Peut-être le coli-bacille ne formait-il pas de nitrite dans le bouillon. Nous avons alors employé, au lieu d'acide sulfurique chimiquement pur, de l'acide commercial, qui contient toujours un peu d'acide

(1) KITASATO. *Die negative Indol-Reaction der Typhusbacillen im Gegensatz zu anderen ähnlichen Bacillenarten.* (*Zeitschrift für Hygiene*, Bd. VII, 1889.)

(2) Kitasato indique le nitrate potassique, et non pas le nitrite, comme il eût dû le faire.

azoteux provenant des chambres de plomb, et, dans ces conditions, la réaction rose de l'indol est apparue très manifestement. La culture du bacille de Gaffky ne donne pas, en général, cette coloration; parfois cependant, dans les bouillons abandonnés longtemps à l'étuve, on obtient une légère couleur rouge.

5° Cultures en milieux sucrés. — Propriétés zymotiques.

Pendant longtemps, le diagnostic du microbe de Gaffky a été établi principalement d'après les caractères des cultures sur gélatine et surtout sur pommes de terre.

Quand on eut reconnu que ces signes étaient extrêmement contingents et très insuffisants, on dut pousser plus loin l'étude des propriétés biologiques du microbe, pour chercher s'il n'apparaîtrait pas, dans les manifestations de l'activité du microorganisme placé dans des conditions variées, des particularités nouvelles, susceptibles de servir à la différenciation du bacille. C'est surtout vers la comparaison entre les réactions chimiques provoquées par le bacille de Gaffky et les microbes dont il est important de le distinguer que l'on dirigea, avec raison, ces recherches.

On a découvert ainsi tout un ensemble de caractères *tirés des propriétés zymotiques de ces microbes*, caractères qui constituent, à l'heure actuelle, les *éléments principaux de différenciation du bacille de Gaffky et des microbes côliens*.

En thèse générale, *le coli-bacille est un microbe possédant la propriété de faire fermenter les sucres assez énergiquement; le bacille de Gaffky présente une puissance de fermentation beaucoup moins prononcée.*

Brieger avait déjà constaté que la glucose fermente sous l'action du bacille de Gaffky; mais ce n'est guère que dans ces tout derniers temps que l'activité zymotique de ces microbes a été étudiée d'assez près par Chantemesse et Widal, Dubief, etc.

Dans une première communication (1), Chantemesse et Widal affirmèrent que la distinction entre le microbe de Gaffky et le coli-bacille était très simple : le « bacterium coli » fait fermenter *les*

(1) Académie de médecine de Paris, 13 octobre 1891.

sucres, tandis que le microbe typhique ne jouit pas de cette propriété. Dans une note (1) en réponse à la communication de Chantemesse et Widal, Dubief montra qu'en ce qui concernait la glucose tout au moins, cette affirmation était erronée : le bacille de Gaffky fait fermenter ce sucre comme le coli-bacille et il n'existe que des nuances entre ces deux agents (2). Tous deux transforment la glucose en produits tels que l'alcool, les acides acétique, butyrique, lactique, l'acide carbonique, l'hydrogène. Il n'y a guère de différence entre les deux fermentations que dans la quantité d'acide lactique formée : le bacille de Gaffky produit peu d'acide lactique; le coli-bacille en produit une quantité plus considérable.

Les résultats obtenus par Dubief étaient tellement concluants que, dans une nouvelle communication (3), Chantemesse et Widal reconnurent qu'en effet le bacille de Gaffky fait fermenter quelques sucres, notamment la glucose; mais il existe un hydrocarbure échappant totalement à la fermentation du bacille de Gaffky, la lactose; et les milieux lactosés constituent le moyen par excellence servant à différencier le « bacterium coli » du bacille de Gaffky. Il suffit d'ensemencer séparément, disent Chantemesse et Widal, dans un bouillon sucré avec de la lactose et additionné d'un peu de carbonate de chaux (destiné à neutraliser au fur et à mesure de leur production les acides formés), les bacilles de Gaffky et d'Escherich, pour voir après quelques heures passées à 37°, le « bacillus coli » donner une abondante production de bulles gazeuses venant crever à la surface du liquide, tandis que dans les mêmes conditions le bacille typhique ne produit pas de bulles gazeuses visibles à l'œil nu.

a. *Cultures en bouillons sucrés.* — Nous avons répété l'expérience de Chantemesse et Widal; nous avons ensemencé en liquide

(1) DUBIEF. *Sur la biologie comparée du bacille typhique et du « bacillus coli communis »; leur action sur les sucres.* (*Soc. de biologie*, 17 octobre 1891.)

(2) Dans un travail antérieur (*Archives de médecine expérimentale*, 1er septembre 1891, page 600) nous annonçions n'avoir pas constaté l'attaque de la glucose par les bacilles côliens. Notre erreur s'explique par le fait que nous avions cultivé ces microbes en eau de touraillons glycosée : dans ce milieu d'une valeur nutritive très faible, l'attaque du sucre est à peine appréciable.

(3) CHANTEMESSE et WIDAL. *Différenciation du bacille typhique et du « bacterium coli ».* (*Soc. de biologie*, 7 novembre 1891.)

de Cohn peptonisé (200 grammes), égale quantité de microbes de Gaffky et de coli-bacilles (on avait ajouté au liquide 5 °/₀ de lactose et 1 °/₀ de carbonate de chaux). Après un jour de passage à l'étuve à 37°, nous avons constaté que le bouillon côlien montrait de grosses bulles gazeuses à la surface du liquide. Mais, contrairement aux observations de Chantemesse et Widal, on distinguait parfaitement, dans le bouillon au bacille de Gaffky, *de petites bulles gazeuses, extrêmement fines, venant, sans fracas, crever à la surface du liquide.*

D'un côté, on avait donc une fermentation assez tumultueuse; de l'autre, une fermentation lente et tranquille.

Nous avons répété l'expérience avec des microbes de Gaffky de cinq provenances différentes, et toujours nous avons vu ces fines petites bulles se dégager dans le bouillon lactosé.

L'affirmation de Chantemesse et Widal que « le bacille de Gaffky (dans les conditions précitées) ne produit pas de bulles gazeuses visibles à l'œil nu, » ne s'est donc pas vérifiée dans nos expériences.

Certes, le sucre de lait est beaucoup plus fortement attaqué par le microbe du côlon; par la liqueur de Fehling, on ne retrouve, dans les bouillons lactosés ensemencés avec le bacille de Gaffky, que fort peu de sucre disparu (voir page 38); mais l'acidité est augmentée dans les liquides où l'on n'a pas ajouté de craie.

En résumé, si l'on peut dire que le microbe d'Escherich fait fermenter assez énergiquement le sucre de lait et que cette propriété est très réduite chez le bacille de Gaffky, si l'on peut même utiliser ces caractères différentiels avec beaucoup d'avantages pour la différenciation des deux microbes, il serait téméraire de conclure à une séparation radicale entre les deux agents parasitaires basée sur leurs différences d'activité fermentative : ne s'agit-il pas plutôt de différences quantitatives et non pas qualitatives (1)?

(1) D'après des observations récentes, postérieures au dépôt de ce travail (voir PÉRÉ, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1892, n° 7), le bacille de Gaffky se distinguerait spécifiquement du bacterium coli, non seulement par la moindre énergie de ses activités zymotiques, mais par la différence qualitative des produits de la fermentation : le microbe de Gaffky, dans les milieux à la dextrose, donnerait de l'acide lactique lévogyre ou inactif, tandis que le coli-bacille fabriquerait de l'acide dextrogyre. Mais un excellent mémoire de MM. Van Ermengem et Vanlaer (extrait des *Annales de la Société de médecine de Gand*, 2 août 1892) nous apprend (page 15) qu'il existe, entre les diverses variétés du bacterium coli des différences tout aussi considérables au point de vue de la qualité de l'acide fabriqué : certains coli-bacilles donnent de l'acide lactique dextrogyre, d'autres de l'acide lévogyre !

Néanmoins, *il n'est plus permis aujourd'hui de se passer du criterium des milieux sucrés, quand on se livre à l'étude du bacille de Gaffky.* Mais on peut employer, comme liquides sucrés, non pas seulement le bouillon lactosé, mais d'autres préparations que nous allons passer en revue.

b. *Cultures sur lait.* — Le lait stérilisé constitue un des milieux de culture *usuels* les plus précieux pour le diagnostic du bacille de Gaffky.

Tandis que les cultures en bouillons sucrés nécessitent une longue préparation et des procédés de dosage toujours délicats, le lait, tout en fournissant des résultats tout aussi importants, s'obtient très facilement et est à la portée de tout bactériologiste.

Méthode. — Nous avons toujours employé du lait frais, réparti, par 10 centimètres cubes, dans des tubes réactifs bien bouchés à l'ouate. Par la stérilisation à l'autoclave à 120°, le liquide prend une teinte jaune brunâtre qui gêne l'observation de la culture. Il est préférable de pratiquer la stérilisation discontinue à 100°, plusieurs jours de suite. Le lait se contamine très facilement et sa stérilisation n'est pas aisée. Il est indispensable de s'assurer de la stérilisation par un séjour des tubes pendant deux jours à 37°.

Le lait n'est pas coagulé par le bacille de Gaffky; le coli-bacille provoque une coagulation abondante et rapide de ce liquide.

La réaction du liquide, primitivement neutre, devient acide par la culture de ces deux microbes, mais l'acidité du coli est plus prononcée.

Quand on ajoute à du lait stérilisé une très faible trace de bacilles côliens, fraîchement obtenus, il suffit d'un séjour de deux à trois jours à l'étuve à 37° pour obtenir un coagulum ferme, blanchâtre, comprenant toute la masse de la culture; le caillot est creusé de vacuoles et de sillons; il surnage un peu de liquide clair, incolore, à réaction fortement acide.

On sait aujourd'hui que la coagulation du lait par le microbe du côlon est due à la fermentation de la lactose et à la production, aux dépens de ce sucre, d'une forte quantité d'acide déterminant la coagulation de la caséine. (Si l'on ajoute un alcalin, la coagulation ne se produit pas; elle ne paraît donc pas due à une diastase).

Le bacille de Gaffky, ensemencé dans les mêmes conditions, ne provoque pas la coagulation du liquide. Cependant, la réaction

devient assez fortement acide, mais à un degré bien moins intense que dans les cultures côliennes.

Il existe, au point de vue de leur action sur le lait, entre le microbe d'Escherich et celui de Gaffky, une différence comparable à celle que l'on signale pour le *Saccharomyces lactis* de Duclaux et le *Saccharomyces acidi lactici* de Grotenfelt (1) : le premier ne forme pas assez d'acide pour coaguler le lait, tandis que le second donne une proportion telle d'acide lactique que la caséine se dépose abondamment.

Petruschky a préconisé l'emploi d'un *petit lait au tournesol*, destiné à l'évaluation approximative de la quantité d'acide formée aux dépens du sucre de lait (2).

Nous avons voulu nous assurer des services que peut rendre ce procédé (3).

Préparation du liquide. — Lait très frais chauffé avec acide chlorhydrique dilué pour précipiter la caséine; filtration; neutralisation exacte du filtrat; chauffage au poêle à vapeur pendant deux heures; filtration; le liquide doit être tout à fait clair et parfaitement neutre. On ajoute de la teinture de tournesol jusqu'à coloration violet-pourpre; le liquide rougit par les microbes produisant des acides aux dépens du sucre de lait.

Nous avons cultivé, dans 10 centimètres cubes de ce liquide, pendant dix jours, à 37° (stérilisation obtenue au préalable par cinq passages au poêle à vapeur), du bacille de Gaffky et du microbe d'Escherich.

Les cultures ont fortement rougi.

Nous avons ajouté, goutte à goutte, de la solution normale de soude au dixième pour déterminer la quantité d'acide formée; il a fallu pour le bacille de Gaffky 0cc,07 de solution sodique et pour le bacille d'Escherich 0cc,16.

L'acidité est donc plus marquée avec le bacille du côlon.

c. *Cultures en gélatine maltosée.* — Un autre milieu sucré, fournissant de bons résultats pour la différenciation du microbe

(1) Grotenfelt. *Sur la fermentation lactique provoquée par des levures.* (*Fortschritte der Medicin*, 1889, 4, p. 131.)

(2) *Centralblatt für Bakteriologie*, Bd. VI, S. 661.

(3) Würtz vient de proposer une méthode de culture sur gélose lactosée au tournesol, qui n'est qu'une variante du procédé de Petruschky. (*Société de biologie*, 12 décembre 1891.)

de Gaffky et du « bacterium coli », est l'*eau de malt* ou *moût de bière*, préconisé pour la première fois par nous-même (1).

Ce procédé est basé, encore une fois, sur les propriétés fermentatrices actives du « coli commune »; ce microbe attaque la maltose du moût de bière, le microbe de Gaffky a beaucoup moins d'action sur ce sucre.

Aussi, les cultures sur gélatine au moût de bière (cultures en stries, par exemple) sont-elles bien différentes d'aspect.

Les cultures du coli-bacille montrent ou bien une large couche blanchâtre, assez épaisse, à bords légèrement ondulés, ou bien un dépôt plus restreint mais très saillant, d'un blanc crémeux.

Le bacille de Gaffky ne donne qu'une très maigre traînée discontinue, à peine visible, le long du trait de l'aiguille.

Nous avons déjà signalé les modifications morphologiques de ces deux microbes ainsi cultivés (page 8).

6° Cultures en milieux phéniqués.

Chantemesse et Widal (2) ont signalé, les premiers, la remarquable résistance des bacilles de Gaffky à l'acide phénique.

Comme Holz (3), nous avons constaté, dans nos essais, que la proportion d'acide phénique à ajouter aux bouillons ne doit pas être tout à fait aussi forte que la quantité préconisée par les auteurs français. Le microbe de Gaffky n'a pas proliféré dans les bouillons de veau auxquels nous ajoutions, suivant les indications de Chantemesse et Widal, pour 10 centimètres cubes de liquide, cinq gouttes d'acide phénique à 5 % (addition avant la

(1) E. Malvoz. *Le « bacterium coli » comme agent habituel des péritonites d'origine intestinale.* (*Archives de médecine expérimentale*, 1er septembre 1891, p. 598.)

Ce milieu est préparé de la façon suivante :

Prendre 50 grammes d'orge germé, les moudre, chauffer avec 500 grammes d'eau, très doucement, pendant une heure et demie, en maintenant à une température comprise entre 63° et 65° (saccharification); filtrer après avoir fait bouillir une demi-heure. Clarifier en chauffant vingt minutes à l'autoclave à 120°, puis filtrer.

Au liquide filtré ajouter 10 % de gélatine et préparer des tubes à la façon habituelle.

(2) Chantemesse et Widal. *Recherches sur le bacille typhique.* (*Archives de physiologie*, t. IX, 1887, p. 282.)

(3) Max Holz. *Recherches expérimentales sur la démonstration du bacille typhique.* (*Zeitschr. für Hygiene*, 1890, p. 143

stérilisation). Mais avec trois gouttes d'acide (solution à 5 °/₀), les bouillons ont fourni une culture assez abondante.

Le bacille du côlon présente les mêmes caractères de résistance au phénol ; il supporte même bien quatre gouttes de la solution acide par 10 centimètres cubes de bouillon.

On verra plus loin quels services nous a rendus, pour la recherche des bacilles côliens et du microbe de Gaffky, et leur séparation d'autres bactéries, la méthode Vincent, basée précisément sur l'emploi des bouillons phéniqués maintenus à 42°.

Nous n'avons guère utilisé la méthode de Uffelmann (1) consistant dans l'emploi d'une gélatine acidifiée et colorée par le violet de méthyle. Ce procédé n'offre pas d'avantages bien spéciaux sur les autres méthodes actuellement en usage, et la technique de Vincent nous paraît bien supérieure à celle-ci (2).

7° Anaérobiose.

Les microbes de Gaffky et d'Escherich sont deux espèces facultativement anaérobies.

En cultivant ces microbes soit en bouillons, soit en gélatine répartie en tubes de Roux, dans lesquels le vide était obtenu, après l'ensemencement, par la trompe de Muencke, nous avons obtenu des cultures de ces deux microbes, sans constater de différences bien notables dans les aspects de l'un et de l'autre.

8° Inoculations aux animaux.

Tandis que pour les microbes se développant aussi bien chez l'animal que chez l'homme (charbon, tuberculose, morve, etc.), le criterium expérimental constitue le signe le plus important de leur spécificité, il n'est pas possible, à l'heure actuelle, d'utiliser les résultats obtenus par l'injection aux animaux soit du bacille de Gaffky soit du microbe d'Escherich pour différencier ces deux micro-organismes.

(1) Uffelmann. *Ueber den Nachweis des Typhusbacillus.* (*Berlin. klin. Wochenschrift,* Nr. 33, 1891.)

(2) Würtz et Herman ont constaté que les bacilles de Gaffky et d'Escherich sont détruits par un séjour de deux à trois heures dans le suc gastrique, mais dans des conditions que ne réalise pas la digestion physiologique.

Nous ne voulons pas refaire ici le long historique des travaux, extrêmement nombreux, institués pour reproduire la fièvre typhoïde chez les animaux au moyen de cultures du microbe de Gaffky. A l'heure actuelle, on n'est pas encore parvenu à obtenir chez l'animal une maladie et des lésions que l'on puisse assimiler sûrement à la fièvre typhoïde. Il faut bien dire d'ailleurs qu'il se présente ici une grande difficulté : aucune des espèces animales utilisées dans les laboratoires ne contracte d'affection semblable à la fièvre typhoïde. Le typhus du cheval n'a de commun que le nom avec la fièvre typhoïde humaine.

Le bacille de Gaffky fait périr, par inoculation intraveineuse, et encore d'une façon bien inconstante, quelques animaux tels que le lapin. Mais il est bien probable que ces résultats sont dus plutôt à une intoxication par les produits de la culture qu'à la multiplication abondante des microbes dans l'organisme; les produits solubles fabriqués par les bacilles dans le bouillon et inoculés avec celui-ci sont la cause des lésions anatomiques et de la mort (1).

La présence d'ulcères intestinaux chez des animaux ayant succombé à l'injection des bacilles de Gaffky (très rarement signalée d'ailleurs), ne prouve nullement qu'il s'agisse là de vraie fièvre typhoïde. Würtz et Leudet (2) ont obtenu des ulcères du tube digestif par l'injection du « bacterium lactis aerogenes ». Il existe plus d'un microbe capable de créer des entérites suffisamment intenses pour amener des lésions des plaques de Peyer de l'intestin. C'est ainsi que l'inoculation du « bacillus pyocyaneus » peut amener des congestions, des pertes de substance au niveau des plaques de Peyer (3).

D'ailleurs, le « bacterium coli » provoque, lui aussi, des phénomènes mortels chez les animaux avec des lésions déjà fort bien décrites par Escherich et consistant en une tuméfaction de la rate et de la muqueuse intestinale, des congestions viscérales, etc.

(1) Travaux de Sirotinin, Beumer et Peiper, etc. SIROTININ. *Die Uebertragung von Typhusbacillen auf Versuchsthiere* (*Zeitschr. für Hygiene*, Bd. I, 1886.) — BEUMER et PEIPER. *Bakteriologische Studien über die ætiologischen Bedeutung des Typhusbacillus.* (*Id.*, Bd. I, 1886)

(2) *Recherches sur l'action pathogène de l'acide lactique.* (*Archives de médecine expérimentale*, 1891, p. 491.)

(3) *Traité de médecine, de Charcot, Bouchard, etc.*, t. I, p. 106.

Chantemesse et Widal (1) avaient attaché une grande importance aux résultats de l'injection de bacilles de Gaffky à la souris : cet animal succombe rapidement à la suite de cette inoculation et les auteurs français considèrent ces accidents comme provoqués, non par une intoxication, mais par une véritable infection bacillaire. Malheureusement, ces observateurs ne mentionnent pas les résultats que l'on obtient en opérant avec le « bacterium coli commune » (2).

D'ailleurs, que les effets mortels chez l'animal, à la suite de l'injection de bacilles de Gaffky ou de microbes côliens, soient dus ou bien à une véritable pullulation bactérienne, ou à une intoxication par les poisons de la culture, il semble ressortir clairement de la comparaison des résultats obtenus par le bacille d'Escherich avec les effets du microbe de Gaffky, que les premiers sont plus accentués, plus intenses et plus prononcés que les seconds. En général, le coli-bacille, inoculé aux animaux, apparaît doué de propriétés pathogéniques plus manifestes que le microbe de Gaffky.

C'est ainsi que l'on obtient plus régulièrement la mort des lapins par l'inoculation intraveineuse de cultures du bacille d'Escherich qu'avec les bouillons du microbe de Gaffky. Nous avons en outre injecté sous la peau de ces animaux des cultures de l'un et de l'autre microbe; nous avons obtenu bien plus régulièrement de la suppuration avec le « bacterium coli ».

Celui-ci provoque également l'apparition d'une péritonite, par injection intra-abdominale, tandis que le microbe de Gaffky ne donne que des résultats négatifs (3).

Il nous a paru plus intéressant, non de pratiquer à nouveau des inoculations de cultures soit du microbe du côlon, soit du bacille de Gaffky (expériences tant de fois répétées déjà), mais de chercher à isoler les principes actifs élaborés par l'un et l'autre bacille dans les milieux où ils ont vécu.

(1) *Loc. cit.*

(2) Pendant le cours de ce travail, a paru une note de MM. Würtz et Herman (voir plus loin) sur ce sujet. Ces observateurs ont constaté que les effets des inoculations du bacille de Gaffky à la souris ne lui appartiennent pas en propre. Les souris sont au moins aussi sensibles à l'inoculation de coli-bacilles qu'à celles du microbe de Gaffky.

(3) Expériences de FRÆNKEL. *Ueber peritoneale Infection.* (*Wiener klin. Wochenschr.*, 1891, 13-15.)

Voici les expériences faites dans cette direction.

Plus de cinquante exemples, pris dans les produits organiques les plus divers, ont montré à L. Crismer (1) que le sulfate ammonique avait la propriété de précipiter ces corps en solution, surtout quand il s'agit d'alcaloïdes. C'est dans le but d'éliminer les alcaloïdes, les toxines, les toxalbumines produits par la vie des microbes que nous avons utilisé ces précieuses propriétés du sulfate ammonique.

Trois ballons contenant chacun 500 grammes de bouillon de veau peptonisé ont été ensemencés l'un avec du microbe de Gaffky (1 c. c. de bouillon de deux jours), l'autre avec du coli-bacille (id.); le troisième a servi de témoin. On a laissé un mois à l'étuve. Le bouillon-témoin est resté parfaitement limpide.

On a prélevé 100 grammes de ces bouillons; on a additionné de 75 grammes de sulfate ammonique pur, en poudre fine : celui-ci se dissout presque instantanément; en même temps il se forme dans les trois liquides un précipité :

1° Dans le bouillon-témoin, le précipité a les caractères de la gélatine (qui précipite par le sel);

2° Dans le bouillon-Gaffky, le précipité présente des caractères intermédiaires entre 1 et 3;

3° Dans le bouillon-coli, le précipité est tenu et reste en partie dans le liquide.

On recueille les trois précipités sur un filtre; on lave avec une solution saturée de sulfate ammonique; les précipités ont été débarrassés de l'excès de ce sulfate; on les a traités ensuite au bain-marie par 10 c. c. d'eau; on a additionné de 5 c. c. de glycérine. Ce sont ces solutions qui ont été soumises aux essais physiologiques.

Ces extraits de culture ont été inoculés à toute une série d'animaux.

A des lapins, par inoculations intraveineuses de 4 c. c. de ces liquides, et par inoculations sous-cutanées de 1 c. c. des mêmes liquides; à des chiens, des rats et des cobayes par injections sous-cutanées de 1 c. c.

Résultats. — Les cobayes, rats, lapins ayant reçu 1 c. c. de cet extrait sous la peau n'ont pas présenté de réaction locale ni géné-

(1) L. CRISMER. *Sur les précipitations dites physiques opérées au moyen du sulfate ammonique.* (*Annales de la Société médico-chirurgicale de Liége,* mai 1891.)

rale. Mais les chiens, dans ces conditions, ont manifesté une sensibilité assez grande à ces injections : il s'est développé, au point d'injection, un abcès (pus dont la stérilité a été constatée par des cultures), et cette réaction était plus intense pour la culture de bacilles côliens que pour l'extrait de microbes de Gaffky.

Mais les effets les plus prononcés ont été constatés chez les lapins inoculés par voie intraveineuse.

Cinq minutes après l'injection, on constate que le lapin ayant reçu l'extrait de coli-bacilles manifeste des convulsions cloniques très intenses, suivies bientôt d'une raideur généralisée et d'une hyperesthésie extrêmement forte; il suffit du moindre attouchement, du plus léger souffle pour provoquer des convulsions. La respiration est accélérée (trente au quart). Cet état persiste pendant une heure environ. L'animal a survécu.

Le lapin inoculé avec l'extrait de culture du microbe de Gaffky a réagi également, mais d'une façon beaucoup moins prononcée; les convulsions ont été moins intenses, l'hyperesthésie moins nette, et cet état s'est dissipé plus rapidement.

Le lapin ayant reçu la même quantité de bouillon-témoin (extrait) n'a rien présenté.

En résumé, de ces expériences, si incomplètes qu'elles soient, et des résultats des inoculations tentées par de nombreux observateurs chez des animaux d'espèces variées, ou peut conclure que *l'activité pathogénique se manifeste d'une façon plus intense chez le bacille d'Escherich, par opposition au microbe de Gaffky, et qu'il n'est pas possible en tout cas,* à l'heure actuelle, *d'établir un diagnostic entre ces microbes d'après les effets de l'inoculation des cultures aux animaux* (1).

Conclusions de l'étude des propriétés biologiques des deux microbes.

Nous connaissons à présent les principaux caractères du bacille de Gaffky et du microbe d'Escherich.

Malgré les étroits liens de parenté qui semblent exister entre

(1) MM. Rodet et Roux, dans un mémoire paru récemment dans les *Archives de médecine expérimentale* (1er mai 1892), arrivent aux mêmes conclusions, à la suite d'un grand nombre d'expériences fort bien conduites.

ces deux bacilles, *il est cependant possible de les différencier l'un de l'autre, dans les conditions habituelles des cultures* (toutes réserves faites, bien entendu, quant à la question de leur commune origine).

La morphologie, l'aspect des cultures sur gélatine ordinaire alcaline, gélose, bouillon alcalin et phéniqué, le résultat des inoculations aux animaux ne donnent pas d'indication sûre.

Mais l'étude des propriétés fermentatives de ces deux bacilles fournit des données qui permettent de les distinguer l'un de l'autre.

Les bacilles du côlon, pris fraîchement dans les matières fécales, attaquent énergiquement les sucres (glycose, lactose, maltose, etc.); le microbe de Gaffky n'a qu'une action très restreinte sur ces derniers, surtout sur la lactose et la maltose.

Aussi *l'emploi des cultures sur milieux sucrés* (bouillons sucrés, lait, gélatine au moût de bière, etc.), *doit-il être considéré actuellement comme pouvant fournir les indications les plus sûres quant à la nature de l'un ou de l'autre de ces microbes.*

La présence ou l'absence de l'indol dans les cultures, est un bon signe à noter dans chaque cas, mais plus incertain que les précédents.

Enfin, la culture sur pommes de terre, si elle donne des indications utiles, ne peut plus suffire, *à elle seule,* à établir l'identité soit du microbe de Gaffky, soit du coli-bacille.

Tous ces caractères différentiels que l'on peut noter entre les deux microbes si importants à l'étude desquels ce mémoire est consacré, sont ceux que l'on reconnaît quand on soumet aux recherches le bacille de Gaffky pris sur un cadavre typhique et le microbe d'Escherich recueilli fraîchement dans les matières fécales.

Il est indéniable que s'il existe un grand nombre de caractères communs à ces deux microbes, on peut noter des différences très nettes dans leurs réactions vis-à-vis de certains milieux de culture.

Mais ces différences sont-elles essentielles? Si réelles qu'elles soient, constituent-elles des caractères qui, à eux seuls, puissent permettre d'affirmer que le bacille de Gaffky et le coli-bacille appartiennent à deux espèces bien distinctes, tellement fixées

dans leur entité qu'il serait impossible d'admettre que l'une puisse dériver de l'autre ou inversement?

En d'autres termes, toutes ces différences, notées dans la biologie de ces microbes, accusent-elles des *variétés* ou bien des *espèces* distinctes?

La question a une importance capitale : elle contient, en somme, toute l'essence du débat engagé entre l'école de Lyon et celle de Paris.

Les progrès de la bactériologie ont montré que bien des micro-organismes que l'on s'était habitué à considérer comme appartenant à des espèces tout à fait distinctes, ne sont que des variétés ou des races d'un seul et même microbe, susceptibles de se transformer l'une dans l'autre et réciproquement.

Ce n'est pas parce que l'on constate des différences même prononcées dans les propriétés des cultures de deux micro-parasites que l'on est autorisé toujours à en faire des êtres spécifiquement distincts.

Quelles différences entre le microbe constituant le premier vaccin charbonneux de Pasteur, et le « bacillus anthracis » virulent! Caractères morphologiques, développement des cultures, résultats des inoculations, tous ces signes sont tellement différents de l'un à l'autre micro-organisme, que l'on serait presque autorisé à établir une distinction radicale entre ces microbes si l'on ne connaissait leurs liens de parenté!

Et ce bacille charbonneux atténué, obtenu par certains artifices de laboratoire, est tellement bien fixé dans ses nouvelles propriétés, qu'on a beau le placer dans les conditions de culture les plus favorables, il ne reprend pas les caractères du microbe virulent originaire.

Le microbe du choléra des poules peut être pris à un stade quelconque de l'atténuation due à l'oxygène de l'air, et transmettre à des générations successives le degré de virulence où il était descendu.

Combien suggestif, toujours à ce point de vue, le beau travail de Roux (1) sur la perte de la propriété sporogène du bacille charbonneux! Qui reconnaîtrait la bactéridie dans ce bacille saprophyte devenu incapable de faire des spores et de tuer une souris?

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1890, page 33.

« L'expérimentateur qui rencontrerait un semblable bacille serait fort embarrassé de reconnaître en lui la bactéridie du charbon. Il n'aurait pas la moindre hésitation pour en faire une espèce saprophyte, sans parenté aucune avec le *bacillus anthracis*. »

Et que l'on note bien qu'il s'agit ici de la perte d'une propriété considérée comme des plus importantes au point de vue de la détermination spécifique : la propriété sporogène!

D'autres fonctions, non moins importantes, peuvent être abolies chez divers microbes, grâce à certains artifices. Les travaux de Wasserzug (1) ont fait voir que l'on peut supprimer d'une façon permanente la fonction productrice de matière colorante chez le bacille du pus bleu. Il faudrait transcrire ici dans son entier l'admirable travail de Gessard (2) sur les races de ce « bacillus pyocyaneus », pour montrer combien les changements de milieu peuvent influer sur les propriétés les plus essentielles des bactéries, et comment ces modifications sont susceptibles de se transmettre, au point que le microbe rapporté dans son milieu originel conserve tous ses nouveaux caractères. Gessard a pu obtenir des races héréditaires du microbe du pus bleu, races sans pigment, incapables de fabriquer de la matière colorante, même dans les conditions habituellement les plus favorables à cette fonction chromogène! Qui reconnaîtrait dans ces cultures non colorées le microbe du pus bleu ?

En présence de ces exemples, que l'on pourrait multiplier à l'infini (3), de variations des propriétés les plus importantes des microbes sous l'influence des milieux, *n'est-il pas naturel et logique de se demander si ces différences que l'on note entre le bacille de Gaffky et le coli-bacille, constituent des caractères qui, à eux seuls, doivent annihiler toutes les similitudes?*

Il est évident que la réponse à cette question serait considérablement facilitée si l'on parvenait, par l'un ou l'autre artifice, à rapprocher davantage encore ces deux microbes, ou, en d'autres

(1) WASSERZUG. *Variations durables de la forme et de la fonction chez les Bactéries.* (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1888.)

(2) GESSARD. *Les races du bacille pyocyanique.* (*Annales de l'Institut Pasteur*, n° 27, 1891.)

(3) MM. Charrin et Physalix viennent de publier de nouveaux faits très suggestifs sur les races du pyocyaneus.

termes, à supprimer leurs principaux caractères distinctifs. C'est à cet ordre de recherches que le chapitre suivant est consacré.

II.

Variations biologiques du « bacterium coli commune ».

Les recherches que nous allons exposer ont eu pour but de déterminer la *possibilité des transformations artificielles du « bacterium coli commune »*. Les fonctions zymotiques de ce microbe, la production de l'indol dans ses cultures, toutes propriétés que l'on doit considérer comme distinguant cet organisme du bacille de Gaffky, sont-elles inhérentes à son développement? Ne serait-il pas possible d'obtenir, par l'un ou l'autre artifice, des cultures du microbe d'Escherich dépourvues de leurs propriétés fermentatives habituelles, de leur réaction de l'indol, etc., présentant les caractères, négatifs à ces points de vue, du bacille de Gaffky?

On sait que Rodet et Roux affirment avoir obtenu la transformation du « bacillus coli » en microbe de Gaffky en soumettant les bactéries du côlon à des influences variées, telles que le chauffage, l'action des antiseptiques, etc. Malheureusement, les observateurs lyonnais n'ont guère fait connaître, jusqu'à présent, l'exposé détaillé de leurs recherches; on ne peut guère savoir, quand ils parlent du « bacillus coli » transformé en microbe de Gaffky, sur quels caractères de culture notamment ils établissent la preuve de ces modifications.

Or, un travail de cette nature doit être nécessairement très riche en détails; c'est seulement de cette façon que l'on peut établir des comparaisons fructueuses et parvenir à se faire une vue d'ensemble exacte. C'est pour cette raison que nous exposerons un peu longuement les détails de nos recherches.

1° Cultures de bacilles du côlon soumises à l'action de l'acide phénique à 42°.

Nous avons pris une culture pure de bacilles d'Escherich, prélevés dans les matières fécales, culture coagulant le lait en trois à quatre jours, donnant un dépôt considérable sur la gélatine mal-

tosée, la réaction nette de l'indol dans les bouillons, une purée épaisse sur tranches de pommes de terre.

Cette culture a été ensemencée dans 10 c. c. de bouillon de veau peptonisé et phéniqué (3 gouttes d'acide phénique à 5 °/₀). — Culture A.

La culture a été mise à l'étuve réglée à 42°.

Après huit jours, cette culture a servi à ensemencer un second bouillon identique (culture B), et ainsi de suite de huit jours en huit jours (cultures C et D).

Puis nous avons prélevé une « œsel » de chacune de ces quatre cultures, et nous avons ensemencé des tubes de lait, de gélatine maltosée, des bouillons peptonisés alcalins, des pommes de terre, de la gélatine alcalinisée.

En même temps, pour servir de témoins, nous cultivions sur ces divers milieux des coli-bacilles n'ayant pas passé par l'acide phénique.

Nous avons abandonné ces cultures en partie à 18°-20°, en partie à 37°.

Résultats.

a. *Cultures sur lait à 37°.* — Tandis que les cultures de coli-bacilles n'ayant pas été soumises à l'action de l'acide phénique montraient la coagulation complète du liquide après quatre jours, les cultures A, B, C, D sont parfaitement liquides après ce temps.

Après huit jours, les cultures A ont commencé à s'épaissir, les cultures B, C et D restant bien mobiles, liquides.

Après dix jours, les cultures A, B, C étaient coagulées; *la culture D ne s'est pas coagulée, même après quatre semaines* (elle contenait des microbes vivants).

b. *Cultures sur gélatine au moût de bière.* — Les mêmes constatations ont été faites. Les cultures A, B, C, D ont très peu prospéré sur ce milieu, tandis que le coli-bacille témoin a donné un dépôt épais.

c. *Cultures sur pommes de terre.* — Après trois jours, les témoins ont donné la purée abondante, jaunâtre, étendue sur toute la tranche.

Au contraire, — et le contraste était frappant, — les pommes ensemencées avec la culture D ne montrent pas de dépôt visible; la tranche est seulement très humide, comme la culture de Gaffky, fourmillant de bacilles.

Les cultures A, B, C forment des dépôts un peu jaunâtres, mais fort restreints, minces, nullement comparables aux témoins. (Cela rappelle certains Gaffky vieux.)

Après six jours, les cultures ont un peu grandi, mais on note toujours les mêmes différences des unes aux autres.

On commence à apercevoir un très léger dépôt en D, mais la culture est restée stationnaire.

d. *Cultures en bouillons alcalins à 37°.* — Ces cultures se sont troublées fortement.

Au point de vue de l'indol, la culture A a donné une réaction rose, plus faible que le témoin; la culture B a donné une réaction plus faible encore; la culture C a donné une réaction extrêmement faible; la culture D a donné une réaction *négative.*

Ces différences étaient extrêmement nettes.

Ces cultures en bouillons alcalins ont été reportées ensuite sur pommes de terre; nous voulions vérifier si les particularités observées immédiatement au sortir des bouillons phéniqués s'étaient maintenues chez les microbes remis dans les conditions habituelles des cultures. Les mêmes différences ont été constatées, c'est-à-dire que les cultures n'ont donné que des dépôts minimes, ressemblant bien plus à certaines cultures du microbe de Gaffky qu'au coli-bacille.

Enfin, ces cultures en bouillons alcalins (cultures C et D) ont été ensemencées dans des bouillons lactosés.

Analyse des bouillons sucrés ensemencés avec les cultures des bouillons alcalins C et D (c'est-à-dire provenant des bouillons phéniqués C et D transportés ensuite sur bouillon ordinaire).

On a ensemencé en liquide de Cohn peptonisé (1) et lactosé, réparti en flacons d'Erlenmeyer, à raison de 200 grammes par flacon, une « œsel » de chacun des bouillons suivants :

1° Bouillon ordinaire de bacilles de Gaffky;

2° Bouillon ordinaire de bacilles du côlon ayant passé par la culture phéniquée = bouillon C;

3° Bouillon ordinaire de bacilles du côlon ayant passé par la culture phéniquée = bouillon D;

4° Bouillon ordinaire de bacilles du côlon pris fraichement dans les matières fécales;

5° Un flacon a servi de témoin.

Les cinq flacons, absolument dans les mêmes conditions, ont été placés à

(1) Phosphate de potasse	5	grammes.
Sulfate de magnésie	50	centigrammes.
Phosphate tricalcique	50	—
Tartrate d'ammoniaque	10	grammes.
Peptone	20	—
Sucre de lait du commerce	70	—
Eau	1,000	—

Après filtration on ajoute 10 grammes de $CaCO_3$.

l'étuve à 37° pendant trois semaines. Les quatre premiers se sont troublés, le témoin est resté limpide. Puis on a amené à un litre et on a dosé, à la liqueur de Fehling, le sucre de ces cinq bouillons :

1°	Bouillon Gaffky	5,005 %	de lactose.
2°	— C	4,805 —	—
3°	— D	4,62 —	—
4°	— coli ordinaire non phéniqué	3,556 —	—
5°	— témoin	5,92 %	—

Ces résultats montrent que les bacilles du côlon, soumis à nos passages par l'acide phénique (C et D), se sont comportés, vis-à-vis de la lactose, d'une façon qui les rapproche bien plus du microbe de Gaffky que du bacille côlien ordinaire.

N. B. Il est très important de remarquer que les bacilles côliens, modifiés par l'acide phénique au point de perdre en grande partie leurs propriétés fermentatives, ont été réensemencés en bouillons ordinaires, puis seulement en bouillons lactosés; *même après avoir été remis dans les conditions habituelles, ils ont attaqué la lactose beaucoup moins énergiquement.*

e. *Cultures en gélatine alcaline, en tubes inclinés.* — Ici, toutes les cultures ont donné les caractères habituels du « bacterium coli » ou du Gaffky quant à l'aspect des dépôts.

Mais au microscope, nous avons noté des différences déjà signalées ailleurs : la culture D montrait des bacilles beaucoup plus grêles, plus allongés surtout, que la culture A.

Ces cultures sur gélatine ont été ensemencées, après huit jours, sur pommes de terre, lait, bouillon alcalin.

Les cultures sur pommes de terre n'ont que peu prospéré, rappelant beaucoup plus le microbe de Gaffky que celui d'Escherich. Mais les bouillons ont donné une très légère réaction rose de l'indol. Enfin les cultures sur lait ont montré des caillots, *mais seulement après un séjour de quinze jours à l'étuve.*

En résumé, *par le passage des bacilles du côlon en bouillons phéniqués à 42° et par des ensemencements successifs dans ce milieu, nous avons obtenu une modification tellement considérable de ces microbes, que ceux-ci se sont comportés dans les cultures ultérieures, sur les milieux habituels, comme le microbe de Gaffky.*

Il ne nous paraît pas douteux que si, après avoir soumis à un bactériologiste les cultures D, par exemple, nous lui avions demandé de les identifier, soit comme microbes du côlon, soit

comme bacilles de Gaffky, c'est en faveur de ce dernier microbe qu'il se serait prononcé.

Il est donc possible d'obtenir, par certains artifices de culture, la transformation du « bacillus coli commune » en un microbe possédant les caractères les plus importants du bacille de Gaffky. Ces modifications se sont maintenues pendant plusieurs générations, même en reportant les microbes dans les milieux normaux. (Voir page 38.)

Il ne s'agit donc pas seulement ici de variations tout à fait transitoires, telles que Guignard et Charrin (1) en ont observé pour les microbes du pus bleu soumis à l'action des antiseptiques : ici, l'une quelconque des variétés obtenues reprenait immédiatement les caractères morphologiques et physiologiques normaux du « bacillus pyocyaneus », quand on la reportait dans le bouillon normal.

Peu à peu, il est vrai, dans nos cultures en série, la tendance à revenir au type originel s'est manifestée. Mais il n'en est pas moins vrai qu'à un moment donné, — et ce fait est déjà très important à lui seul, — nous avons eu affaire à un microbe côlien se manifestant avec les caractères du bacille de Gaffky. D'après ce que nous savons, notamment de la préparation des vaccins charbonneux, il est vraisemblable qu'en poussant plus loin nos essais de modification du coli-bacille, nous eussions obtenu des changements plus prononcés et surtout plus durables, comparables, par exemple, à ceux obtenus par Wasserzug et Gessard (2) avec le « bacillus pyocyaneus ». Nous nous proposons d'ailleurs de ne pas abandonner cet ordre de recherches.

2° Étude de l'effet du vieillissement des cultures sur le coli-bacille.

Rodet et Roux disent avoir noté la transformation du « bacterium coli » en microbe de Gaffky par le vieillissement des cultures ; mais ils ne fournissent pas la démonstration rigoureuse de ce fait.

(1) Charcot et Bouchard, *Traité de médecine*, t. I, p. 18.
(2) *Loc. cit.*

Nous avons pris une vieille culture sur gélatine alcaline de « bacillus coli », datant de six mois. Nous l'avons ensemencée sur les divers milieux usuels.

a. Les *plaques de gélatine* ont fourni un culture pure, en majorité de la variété dite opaque.

b. Sur *pommes de terre*, après quatre jours, dépôt très peu apparent, nullement comparable à la purée du « bacillus coli » normal. Ce dépôt ne s'est guère modifié par la suite (1).

c. Les tubes de *lait* ont pu être maintenus dix jours à l'étuve sans présenter de coagulation; après quinze jours, commencement d'épaississement; après vingt jours, liquide en partie coagulé, mais il persiste une grande quantité de lait non précipité.

d. Les tubes de *bouillon peptonisé à 37°* se sont troublés, mais ils n'ont pas donné la moindre réaction de l'indol.

En résumé, le *vieillissement des cultures, dans les conditions susindiquées, nous a montré de grandes modifications dans les allures du coli-bacille;* les cultures sur pommes et bouillons peptonisés se comportaient comme le microbe de Gaffky, à beaucoup de points de vue au moins; les fonctions zymotiques étaient également fort atténuées, car le lait ne s'est coagulé que tardivement et incomplètement. (Il faut ajouter que le bacille de Gaffky a moins d'action encore sur la lactose.)

Chantemesse et Widal nous paraissent donc s'être trop avancés quand ils ont affirmé que le vieillissement ne modifiait pas les caractères des cultures du coli-bacille.

3° Action de la chaleur sur le « bacillus coli ».

Rodet et Roux (2) disent que le chauffage du « bacterium coli » pendant treize minutes à 80° le transforme en bacille de Gaffky, ou, tout au moins, que le coli-bacille, dans ces conditions, voit abaisser sa température-limite de culture, c'est-à-dire que l'un des caractères distinctifs des deux microbes disparaît.

(1) De son côté, Balfanti (*op. cit.*) a observé que des cultures récentes de bacilles de Gaffky donnent un dépôt, sur pommes de terre, plus visible et plus abondant que les vieilles cultures.

(2) *Gazette des hôpitaux*, n° 123, 1891.

Chantemesse et Widal (1) soutiennent que l'action de cette température tue absolument le bacterium d'Escherich. Ils vont plus loin : ils affirment qu'il suffit de quelques secondes pour que les cultures du « bacillus coli » soient anéanties à 80°.

Nous avons pris une culture de bacilles du côlon en bouillon alcalin (laissée quinze jours à l'étuve). Nous avons aspiré quelques gouttes de liquide en tubes dits « homéopathiques »: ce sont de petites ampoules étirées aux deux bouts, obtenues au moyen d'un fin tube de verre travaillé à la flamme; le contenu de ces ampoules prend très rapidement la température du liquide dans lequel on les plonge.

Ces ampoules ont été soumises à l'action de l'eau chaude, en grande quantité: *a*. les uns à 65° pendant quinze minutes, *b* les autres à 80° pendant une minute, *c* les autres à 80° pendant douze minutes.

Puis, bouillons chauffés et non chauffés ont été cultivés dans les milieux ordinaires.

Les cultures chauffées quinze minutes à 65° et les cultures chauffées douze minutes à 80°, se sont montrées stériles (2).

Mais celles qui n'avaient subi que pendant une minute l'action de cette dernière température ont donné des cultures.

En comparant les cultures du bouillon chauffé une minute à 80° avec celles du liquide non soumis à cette température, nous avons noté les différences suivantes :

En *gélatine maltosée*, tandis que la culture du « bacillus coli » non chauffé a donné une couche épaisse, abondante, les tubes ensemencés avec les microbes soumis une minute à 80° n'ont présenté qu'un dépôt extrêmement restreint, à peine visible : les cultures rappelaient celle du microbe de Gaffky.

Sur *pommes de terre*, le constraste était également manifeste : le coli chauffé n'a présenté sur ce milieu qu'une couche fine, jaunâtre, absolument différente de la purée abondante des microbes normaux.

Mais les *bouillons*, de part et d'autre, ont fourni la réaction de l'indol; le *lait* s'est coagulé, mais plus lentement, avec les bacilles chauffés.

En résumé, l'*action d'une température de 80° pendant une minute*, si elle ne modifie pas le « bacillus coli » aussi profondément que les cultures en bouillons phéniqués, telles que nous les avons pratiquées, *supprime cependant certains caractères importants de ce microbe* : ce dernier, au point de vue de la fermen-

(1) *Société de biologie*, 7 novembre 1891.

(2) Pour Janowski, le bacille de Gaffky est déjà tué après une exposition de dix minutes à 56°-57°.

tation du maltose, de la culture sur pommes de terre, s'est alors comporté comme le bacille de Gaffky.

De nos expériences, nous concluons, contrairement à Chantemesse et Widal, que les cultures du « bacterium coli » peuvent résister une minute à la température de 80°; mais Rodet et Roux vont trop loin en avançant que le coli-bacille, par l'action prolongée (douze à treize minutes) d'une température de 80°, est transformé en microbe de Gaffky : en nous plaçant dans ces conditions, nous avons obtenu la stérilisation de la culture.

4° Effets du passage du « bacillus coli » par l'organisme animal sain.

D'après Rodet et Roux (1), il serait possible d'obtenir la transformation du « bacterium coli » en microbe de Gaffky, par simple passage à travers l'organisme de *certains* animaux. Malheureusement, ils n'ont pas fait connaître ces animaux.

Les seules expériences que nous ayons tentées dans cet ordre de recherches, ont consisté en inoculations du « bacillus coli » dans le sang de lapins (injection de bouillon de culture — 1 c. c. — dans la veine marginale de l'oreille; les animaux étaient sacrifiés après dix-huit à vingt-quatre heures).

Les cultures des organes de lapins sains, sur les divers milieux, ont donné des résultats positifs pour le foie et la rate. Mais la seule différence notée entre ces cultures et les ensemencements du « bacillus coli » normal, a été le développement plus restreint, beaucoup moins accentué sur pommes de terre; mais les propriétés zymotiques, la réaction de l'indol dans les bouillons étaient conservées.

Le passage par le corps du lapin sain conserve donc au bacille d'Escherich la plupart de ses propriétés importantes. Chantemesse et Widal ont obtenu les mêmes résultats (2).

5° Effets du passage par l'organisme animal fébricitant.

En présence du résultat négatif des expériences précédentes, nous nous sommes demandé si le « bacillus coli », végétant dans

(1) Note du 20 octobre 1891.

(2) *Société de biologie*, 7 novembre 1891.

un organisme, non plus sain, mais modifié par la fièvre, conservait aussi bien ses différents caractères.

Les seules expériences que nous puissions rapporter ont consisté en inoculation intraveineuse de microbes du côlon à des lapins chez lesquels nous avions déterminé la fièvre par l'injection de cultures stérilisées de « bacillus pyocyaneus » (1).

Expériences. — Le 10 octobre 1891, nous inoculons à deux lapins, du poids de 3 kilogrammes, 3 c. c. à l'un, 4 c. c. à l'autre d'un bouillon de culture, stérilisé à 100°, de bacilles du pus bleu. Le lapin n° 1 présente à ce moment une température de 39°,3, et le lapin n° 2 une température de 39°,4. L'injection se fait dans la veine marginale de l'oreille.

Quatre heures après ces inoculations, les animaux paraissent très malades, affaissés. Le lapin n° 1 a une température de 41°,1, et le lapin n° 2 une température de 41°,9. Nous injectons dans la veine de l'oreille un demi-centimètre cube de bouillon de « bacillus coli », ayant séjourné six jours à l'étuve.

Le lendemain, la température des animaux est descendue à 39°,3; on constate une paralysie de leur train postérieur.

Les lapins sont sacrifiés vingt heures après l'inoculation des bacilles du côlon.

Les cultures de leurs organes ont proliféré abondamment; mais les divers caractères du « bacterium coli » étaient conservés : à part les cultures sur pommes de terre qui n'ont prospéré que faiblement, les autres propriétés du microbe d'Escherich s'étaient maintenues.

Nous ne voudrions pas tirer de conclusion de ces expériences et leur faire dire davantage que ne le comportent leurs résultats. Il serait téméraire d'avancer, par exemple, après ce que nous avons observé chez les lapins fébricitants, que la fièvre en général n'est pas, par elle-même, capable de supprimer les caractères distinctifs entre les deux microbes d'Escherich et de Gaffky. Le problème de la fièvre est un des plus compliqués de ceux qui se présentent au physiologiste : pour affirmer que les phénomènes morbides, extrêmement complexes, que nous rangeons sous le nom de « fièvre », sont incapables d'imprimer aux bacilles côliens présents dans les tissus des modifications profondes et durables, il faudrait pouvoir baser cette affirmation sur tout un ensemble d'expériences extrêmement variées, réalisant les multiples conditions dans lesquelles l'organisme se trouve placé pendant le cours des procès fébriles.

(1) Ces effets ont été bien étudiés par Charrin, Henrijean, etc.

Ces expériences, nous ne les avons pas faites, et personne encore, jusqu'à l'heure actuelle, ne les a entreprises systématiquement.

En résumé, des quelques constatations que nous avons pu faire, nous avons acquis la conviction que le coli-bacille est un microbe dont les activités sont susceptibles de se manifester sous des aspects bien différents, suivant les conditions dans lesquelles il se trouve placé. *Ses propriétés fermentatives si actives, qui constituent les signes les plus importants servant à le distinguer du microbe de Gaffky, chez lequel elles sont réduites au minimum, ces propriétés s'effacent considérablement, grâce à certains artifices.* C'est surtout par des cultures en bouillons phéniqués, à 42°, que nous avons obtenu les modifications les plus considérables du coli-bacille, au point que les microbes issus de ces cultures se comportaient comme le bacille de Gaffky : l'action sur le sucre de lait était, notamment, presque aussi peu prononcée chez ces bacilles côliens transformés que chez le microbe décrit par Gaffky (voir tableau d'analyse, page 38). Or, on sait que c'est précisément l'action presque nulle du microbe de Gaffky sur la lactose qui est considérée par Chantemesse et Widal comme l'élément le plus important du diagnostic de ces microbes.

Connaissons-nous des exemples de cette suppression possible, dans certaines conditions, des caractères les plus importants de l'activité d'un micro-organisme, tels que les propriétés fermentatives ?

Il existe un travail, trop peu connu, d'Arloing (1), qui montre précisément de beaux exemples de ces variations. Les microbes de la septicémie gangréneuse et du charbon emphysémateux du bœuf qui, à l'état frais, déterminent la fermentation de beaucoup de sucres, perdent totalement cette propriété quand ils sont desséchés ou même sous l'action d'un certain degré de chaleur (2).

Qui songerait à faire des espèces nouvelles de ces microbes ayant ainsi perdu leurs propriétés zymotiques ?

(1) Arloing. *Propriétés zymotiques de certains virus.* (*Comptes rendus*, 1885, t. CI, p. 819.)

(2) Frankland (*Revue scientifique*, 30 juillet 1892, p. 136) cite l'exemple curieux d'un bacille ayant la propriété de faire fermenter le citrate de chaux, et perdant ce pouvoir par de très minimes influences.

Il nous paraît résulter de nos constatations *qu'il est peut-être téméraire d'affirmer, comme Chantemesse et Widal, que le « bacillus coli » présente de telles différences avec le microbe de Gaffky, qu'il faille absolument rejeter l'hypothèse de la transformation possible de l'une de ces bactéries dans l'autre.* MM. Rodet et Roux, disent-ils, n'ont pas fourni la preuve des faits qu'ils avançaient, savoir la transformation du « bacterium coli » en bacille de Gaffky.

Nous croyons que les expériences et les résultats rapportés dans ce chapitre répondent, en partie au moins, à la question de MM. Chantemesse et Widal.

III.

RECHERCHES SUR LES CADAVRES.

Au point où nous en sommes arrivé de notre étude, nous avons, après avoir exposé les caractères différentiels du microbe de Gaffky et du « bacterium coli », montré que ces différences, si prononcées qu'elles soient, n'autorisent pas à faire deux espèces absolument distinctes de ces micro-parasites : on peut, par certains artifices, supprimer les caractères les plus distinctifs de ces deux bactéries.

Mais il nous reste à envisager une autre face de la question qui nous occupe. Le microbe de Gaffky, professe-t-on généralement, ne se retrouve que dans la fièvre typhoïde ; non seulement sa présence est constante dans cette maladie, mais il n'existe aucune autre affection où l'on retrouve dans les organes des microbes présentant les différents caractères du bacille de Gaffky.

Nous avons voulu nous assurer de la réalité objective de ces affirmations, et voici les questions que nous nous sommes posées :

1° *Le bacille de Gaffky existe-t-il toujours chez les typhiques ? D'autres bacilles ne se trouvent-ils pas dans les organes ? Quelles sont les affinités de ces derniers avec le bacille typhique ?*

2° *Le bacille de Gaffky ne se rencontre-t-il pas dans des affections qu'il est impossible de considérer comme devant rentrer dans le cadre de la fièvre typhoïde ?*

A. Première question. — *Le microbe de Gaffky se retrouve-t-il chez tous les typhiques? D'autres bacilles, plus ou moins voisins, ne se rencontrent-ils pas dans les organes? Quelles sont les affinités de ces bacilles avec le micro-organisme décrit par Gaffky?*

Les grands travaux classiques (Gaffky (1), Chantemesse et Widal (2)), qui ont fondé la spécificité du microbe considéré encore généralement comme l'agent typhique, ont attribué la plus grande importance, comme criterium principal, aux caractères de la culture sur pommes de terre de l'agent parasitaire. C'est beaucoup plus tard qu'il fut établi que ce signe distinctif était très relatif et d'une valeur bien moins considérable que d'autres caractères, en tête desquels se placent les propriétés fermentatives.

Il faut bien dire que, jusqu'à présent, on a peu soumis aux diverses épreuves de cultures que l'on est maintenant en droit d'exiger quand on parle soit de microbes de Gaffky, soit de bacilles côliens, les différents micro-organismes présents dans les organes des typhiques. Aussi nous a-t-il paru du plus haut intérêt de vérifier comment se comporteraient ces microbes dans des ensemencements sur les milieux les plus variés, notamment les milieux sucrés.

Il nous semblait d'autant plus nécessaire de pratiquer ces recherches que, dans ces derniers temps, il a été reconnu (Macé, Rodet et Roux, etc.) que bien souvent, à côté du bacille-type de Gaffky, on trouve chez les typhiques des microbes que l'on doit rattacher au « bacterium coli commune ».

Nous n'avons pu, malheureusement, étudier que quatre cadavres typhiques (ce sont les seuls qui se soient présentés pendant tout le courant d'une année dans notre service d'autopsies), mais les résultats de nos cultures sont assez intéressants pour trouver leur place ici.

Observation I. — Femme, 24 ans. *Diagnostic clinique :* fièvre typhoïde typique.

Diagnostic anatomique (autopsie, dix-sept heures après la mort, temps froid, corps très bien conservé). — Lésions ulcéreuses des

(1) Gaffky. *Zur Aetiologie des Abdominaltyphus.* (*Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte.* Berlin, 1884.)

(2) Chantemesse et Widal. *Recherches sur le bacille typhique.* (*Archives de physiologie*, t. IX, 1887.)

plaques de Peyer, dans toute l'étendue de l'iléon, ulcères en grande partie détergés, laissant voir la tunique musculeuse.

Petits ulcères folliculeux du côlon ascendant.

Tuméfaction considérable des ganglions mésentériques et de la rate (celle-ci mesure 16-9-4).

Tuméfaction trouble du foie et des reins.

Organes cultivés sur plaques de gélatine alcalinisée . .	*Foie.* *Rate* *Ganglion mésentérique.*

Résultats.

Rate. — La plaque originale montre des colonies assez serrées, la plupart enfouies dans la profondeur de la gelée, globuleuses, jaunâtres, circulaires; les autres sont étalées à la surface, excessivement minces, pelliculaires, à bords serpigineux (au microscope aspect d'une mer de glace) = colonies *A*.

Mais on voit aussi des colonies superficielles plus épaisses, moins étalées, opaques, presque complètement circulaires = colonies *B* et *C*, et, entre ces deux aspects de colonies, existent beaucoup de formes de transition de l'une à l'autre. De plus, on reconnaît quelques colonies profondes, jaunâtres, produisant autour d'elles la liquéfaction de la gélatine = colonies *D*.

Foie. — Les plaques fournissent les mêmes colonies, y compris les colonies liquéfiantes *D*.

Ganglion mésentérique. — Ici, il n'y a pas de colonies liquéfiantes, ni de colonies étalées opaques; on voit seulement de fins dépôts pelliculaires, ayant l'aspect d'une mer de glace au microscope = colonies *M*, et de petits disques jaunâtres, enfouis dans la profondeur = colonies *M'*.

Étude des colonies.

Colonies *A*. — *Tubes droits de gélatine.* — Après cinq jours, la culture présente l'aspect typique de la variété transparente du microbe de Gaffky, y compris la couleur brunâtre très nette de la pointe d'enfoncement. Au microscope, bacilles, les uns très petits, les autres de 3 à 4 μ, grêles, les autres en filaments, bacilles ne prenant pas le Gram, assez mobiles.

Pommes de terre à 18°-20°. — Les cultures montrent l'aspect humide, glacé du bacille-type de Gaffky; au microscope, nombreux bacilles.

Lait à 37°. — Pas de coagulation du liquide après cinq semaines.

Bouillon alcalin peptonisé 37°. — Pas de réaction de l'indol.

Bouillon phéniqué à 42°. — Développement assez abondant.

Gélatine au moût de bière. — Développement très restreint.

Colonies *B*. — *Gélatine tubes droits*. — Les cultures présentent un dépôt plus épais, presque opaque, moins étalé que les précédentes, coloration brunâtre du trait; au microscope; bacilles plus épais et plus courts, cependant très mobiles, décolorés par Gram.

Pommes de terre à 18°-20°. Après trois jours, on distingue, le long du trait d'ensemencement, un dépôt bien visible, jaune brunâtre, saillant, mais peu étalé; les jours suivants, il s'est peu étendu en surface = bacilles mobiles, plus longs que sur gélatine.

Lait à 37°. — Pas de coagulation, même après cinq semaines.

Bouillon alcalin peptonisé. — Pas d'indol.

Bouillon phéniqué à 42°. — Développement abondant.

Gélatine maltosée. — Dépôt très peu considérable.

Colonies *C*. — Mêmes caractères.

Colonies *D*. — *Tubes droits de gélatine*. — La gélatine s'est liquéfiée, sous la forme d'une dépression en entonnoir, avec un fort dépôt blanchâtre : au microscope, on voit des coccus ayant les dimensions et le groupement des staphylocoques.

Ces cultures appartiennent vraisemblablement au « staphylococcus pyogenes albus ».

Colonies *M* et *M'*. — Mêmes caractères que les colonies *A*.

Cette première observation de cadavre typhique nous montre la présence au sein des organes, et en grande abondance, d'un bacille ayant les propriétés principales (fonctions zymotiques très réduites, réaction négative de l'indol), du bacille de Gaffky. A côté de ces bacilles, se trouvaient des micro-organismes de la suppuration (1) : on sait que leur présence a été assez souvent notée chez les typhiques.

Mais déjà dans cette observation, nous remarquons quelques différences, à propos de l'aspect des colonies du microbe de Gaffky : quelques colonies avaient l'aspect typique de la variété transparente, et celles-ci, sur pommes de terre, ont montré la « glaçure » classique; d'autres colonies étaient plus épaisses, de la variété dite « opaque » et sur pommes de terre; au lieu d'une couche humide, on voyait un dépôt très net, quoique restreint; ces colonies doivent cependant être rattachées au bacille de

(1) Vincent (*Recherches bactériologiques sur l'infection mixte par le bacille typhique et le streptocoque*, d'après le *Mercredi médical*, n° 46, 1891) a trouvé cinq fois des streptocoques pyogènes sur seize autopsies de typhoïdiques.

Gaffky : elles ne coagulaient pas le lait, ne donnaient pas d'indol, etc.

Ce sont là des « variétés » du bacille de Gaffky, telles que Babes (1) en a observé.

Observation II. — Femme, 25 ans. *Diagnostic clinique :* fièvre typhoïde.

Diagnostic anatomique (autopsie, vingt-quatre heures après la mort, corps en bon état de conservation). — Les plaques de Peyer sont le siège, dans toute l'étendue de l'iléon, de processus ulcéreux très considérables : les ulcérations sont comblées par des matières nécrosées jaunâtres, en voie d'élimination; follicules clos saillants, tuméfiés; exulcérations des follicules du côlon.

Tuméfaction considérable des ganglions mésentériques et de la rate : celle-ci pèse 375 grammes et mesure 18-8$^1/_2$-4$^1/_2$; parenchyme mou, friable, rouge foncé.

Reins et foie : tuméfaction trouble très nette.

Organes cultivés sur plaques de gélatine . . . . . { *Rate.* *Ganglion mésentérique.*

Les cultures ont fourni, exclusivement, des colonies dont tous les principaux caractères étaient ceux des bacilles de Gaffky.

Observation III. — Petite fille de 15 ans, autopsiée dix-neuf heures après la mort; pas de signes extérieurs de putréfaction.

Diagnostic clinique. — Fièvre typhoïde typique.

Diagnostic anatomique. — Les plaques de Peyer sont le siège d'une tuméfaction considérable : aspect dit « gaufré »; exulcérées au niveau de leurs follicules; par-ci par-là petits ulcères peu profonds, siégeant au niveau de ces plaques, ne mettant pas à nu la couche musculaire; follicules clos tuméfiés.

Ganglions mésentériques très hypertrophiés: rate : 11-5$^1/_2$-3, flasque, molle (ces dimensions sont assez considérables, eu égard à la taille du cadavre).

Légère tuméfaction trouble des reins.

Organes cultivés sur plaques de gélatine . . . . . { *Foie.* *Rate.*

(1) Babes. *Ueber Varietäten des Typhusbacillen.* (*Zeitschr für Hygiene*, 1890.)

Résultats.

Foie. — Après trois jours, il s'est développé une centaine de colonies, toutes de même aspect. — Colonies *A*.

Rate. — On observe deux sortes de colonies : les unes et les autres déterminent la liquéfaction de la gélatine, mais d'un côté c'est un long bacille, de l'autre un coccus, que l'on trouve au microscope. — Colonies *B* et *C*.

Étude des colonies.

Colonies *A*. — *Tubes droits de gélatine.* — Dépôt assez largement étalé, un peu sinueux sur les bords, blanchâtre, presque opaque ; coloration brune du trait; pas de liquéfaction. — Bacilles assez courts, mobiles.

Pommes de terre à 18°. — Après trois jours, dépôt abondant, luisant, jaunâtre.

Lait. — Coagulum ferme, vacuolé; liquide clair surnageant, fortement acide (après trois jours à 37°).

Bouillon alcalin peptonisé. — Réaction rose de l'indol.

Gélatine maltosée. — Dépôt abondant.

Toutes les colonies *A* ont fourni les mêmes caractères; *pas une seule ne s'est comportée comme le bacille de Gaffky.*

Cultures *B*. — Longs bacilles liquéfiant assez rapidement la gélatine.

Cultures *C*. — Ces cultures ont été reconnues comme appartenant au « Staphylococcus pyogenes albus ».

En résumé, cette troisième observation de fièvre typhoïde, bien caractérisée cliniquement et anatomiquement, nous montre, non plus la présence d'un bacille ayant les caractères du microbe de Gaffky, mais celle de *micro-organismes appartenant surtout à l'espèce « bacterium coli » d'Escherich ; à côté de cette bactérie se trouvaient d'autres micro-parasites, dont un certain nombre constitués par des microbes pyogènes.* La présence de ces derniers a été signalée souvent au cours des complications de la fièvre typhoïde.

Nous ferons remarquer que cette troisième observation se rapporte à un cas de fièvre typhoïde à lésions anatomiques beaucoup moins prononcées que les précédentes.

Observation IV. — Femme, 23 ans. *Diagnostic clinique :* Fièvre typhoïde avec complications pneumoniques.

Diagnostic anatomique (autopsie vingt-quatre heures après la mort; pas de signes extérieurs de putréfaction).

Les plaques de Peyer sont tuméfiées, injectées, rougeâtres; par-ci par-là exulcérations au niveau des follicules de ces plaques; tuméfaction légère des follicules clos. En amont de la valvule iléo-cæcale, on trouve un ulcère arrondi, ayant les dimensions d'une pièce d'un franc, siégeant au niveau d'une plaque de Peyer; cette ulcération est creusée comme à l'emporte-pièce; elle n'intéresse qu'une partie de la plaque; celle-ci, dans le restant de son étendue, est fortement tuméfiée.— Hypertrophie des follicules du côlon.

Ganglions mésentériques très développés. Rate très hypertrophiée, mesurant 17 — 9 — 4 $^1/_2$, pesant 385 grammes; parenchyme mou, lie-de-vin.

Petits foyers disséminés de pneumonie lobulaire.

Cultures faites : Rate sur plaques de gélatine.

Les plaques de culture ont fourni une seule espèce microbienne : colonies de 2 à 3 millimètres de diamètre (après quatre jours de développement), étalées à la surface de la plaque, à bords découpés, assez épaisses, présentant un ombilic très saillant; colonies profondes, globuleuses, jaunâtres.

Ces colonies, tant superficielles que profondes, ont fourni les mêmes caractères de culture sur les différents milieux.

Tubes droits de gélatine. — Dépôt très étalé, presque translucide, à bords serpigineux, couleur brune de la pointe d'enfoncement. C'est un bacille grêle, assez mobile, décoloré par le Gram.

Pommes de terre à 18°. — Après quatre jours, aspect humide, glacé, de toute la tranche, à peine une très légère saillie jaunâtre le long du trait. Les jours suivants, cet aspect s'est maintenu, le dépôt est devenu seulement un peu plus visible, mais nullement comparable à la purée abondante du colibacille.

Bouillon alcalin. — Réaction rose de l'indol.

Lait à 37°. – Coagulum abondant, vacuolé; liquide clair, acide, surnageant (expérience répétée plusieurs fois avec le même résultat).

Gélatine-malt. — Dépôt assez développé.

Cette quatrième observation de fièvre typhoïde nous fournit des résultats très importants : elle nous montre *la présence exclusive dans la rate d'un typhique d'un bacille qui, au temps où le critérium principal de ces cultures était l'ensemencement sur pommes de terre, eût certes été caractérisé comme bacille de Gaffky. Mais, par ses propriétés zymotiques, — qui sont considérées aujourd'hui*

comme les plus importantes, — ce microbe doit être rattaché au « bacterium coli » d'Escherich.

Nous ferons remarquer, à propos de cette observation, comme pour la précédente, qu'elle se rapporte à un cas de fièvre typhoïde à lésions relativement peu développées, quoique bien nettes.

En résumé, de l'étude bactériologique des quatre cas de fièvre typhoïde, bien caractérisés cliniquement et anatomo-pathologiquement, que nous avons pu faire, nous arrivons aux résultats suivants :

Dans deux cas, nous avons trouvé des bacilles présentant la plupart des caractères distinctifs du bacille de Gaffky (observations I et II).

Un troisième cas nous a fourni des cultures d'un microbe qu'il faut rattacher, non plus au micro-organisme de Gaffky, mais au « bacterium-coli » d'Escherich. Cet agent parasitaire existait dans les organes, à côté de microbes pyogènes.

Enfin, une quatrième observation a donné le « bacillus coli » à l'exclusion de tout autre microbe.

Ajoutons que les colonies ont été caractérisées, non plus seulement par les cultures en gélatine et sur pommes de terre dont se servait exclusivement Gaffky, mais par les signes, beaucoup plus importants, fournis par les ensemencements en milieux sucrés (lait, gélatine maltosée) et en bouillons (réaction de l'indol).

Il est également très important de constater que les deux autopsies qui nous ont montré nettement le bacille de Gaffky étaient celles de malades en pleine fièvre typhoïde, avec des lésions ulcéreuses étendues et considérables du tube digestif.

Les deux autres observations à bacilles du côlon se rapportaient à des cas de fièvre typhoïde bien caractérisés, mais à lésions beaucoup moins avancées et moins considérables.

B. Deuxième question. — *Le bacille de Gaffky ne se rencontre-t-il pas dans des affections qu'il est impossible de considérer comme devant rentrer dans le cadre de la fièvre typhoïde?*

Comme on le verra plus loin à propos de l'historique du bacille de Gaffky, le savant élève de Koch a affirmé que le microbe

décrit par lui chez les typhoïdiques ne se retrouvait pas dans d'autres affections. Seulement, il ne s'agit que de la recherche des bacilles dans les coupes: Gaffky ne mentionne pas avoir pratiqué des cultures de cadavres non typhiques.

Il ne semble donc pas que l'on ait recherché, aussi systématiquement qu'il l'aurait fallu, s'il est bien vrai que des microbes plus ou moins semblables au bacille de Gaffky ne se rencontrent pas dans des affections différentes de la fièvre typhoïde, et, éventuellement, quels sont les caractères de ces organismes?

Il importe de tenir compte, d'ailleurs, de ce fait, qu'aux débuts des travaux entrepris sur le bacille typhique (Gaffky, Chantemesse et Widal, etc.), on fondait le diagnostic principalement d'après le critérium de la culture sur pommes de terre; les signes tirés des propriétés zymotiques n'entraient pas alors en ligne de compte; or, on sait aujourd'hui que ces caractères sont les plus importants.

Il était donc du plus haut intérêt d'entreprendre la recherche méthodique des microbes que l'on peut rencontrer dans les cadavres les plus divers, placés naturellement dans les conditions des corps qui ont servi à Gaffky, Chantemesse et Widal, etc., pour la démonstration de la spécificité de leur bacille.

Il est étrange que ce genre de recherches ait peu sollicité, jusqu'aujourd'hui, l'attention des bactériologistes (1). Nous n'avons guère trouvé, dans la littérature, qu'un travail d'un élève de Baumgarten (2), Max Beck; mais ses cultures ont été faites sur des cadavres soumis aux injections d'acide phénique pour leur conservation dans les salles d'anatomie.

Nous avons soumis aux recherches bactériologiques les organes d'un assez grand nombre de personnes ayant succombé aux affections les plus diverses, *prises au hasard dans un service d'autopsies*. L'examen *post mortem* de ces corps se faisait, en général, à un moment relativement rapproché de la mort, c'est-à-dire de

(1) Pendant le cours de ce travail, a paru un remarquable mémoire de Würtz et Herman sur ce sujet (*De la présence fréquente du « bacterium coli commune » dans les cadavres. Archives de médecine expérimentale,* novembre 1891). Ces auteurs ont trouvé seize fois sur trentre-deux cadavres le coli-bacille dans les organes. *Seulement ce coli-bacille n'a pas été différencié par les propriétés les plus importantes, celles de fermentation des milieux sucrés;* Würtz et Herman n'ont utilisé, pour le diagnostic, que la gélatine et la pomme de terre, *de sorte qu'il est impossible d'être fixé sur la nature exacte des microbes qu'ils ont trouvés.*

(2) M. Beck. *Die Fäulnissbacterien der menschlichen Leiche. Arbeiten auf dem Gebiete der patholog. Anat. von Baumgarten,* Bd. I, 1891, S. 155.

dix-sept ou dix-huit heures à vingt-quatre heures après celle-ci. Ce sont là les conditions dans lesquelles le bactériologiste se trouve habituellement placé pour ses recherches; ce sont aussi celles de la plupart des travaux entrepris sur les microbes pathogènes du corps de l'homme. Ajoutons que notre étude a été faite pendant la saison froide, à une époque où les processus de putréfaction cadavérique sont réduits à leur minimum.

Technique. — Les organes étudiés ont été la rate, le foie, les ganglions mésentériques, le transsudat péritonéal, le sang d'une veine mésentérique.

Pour prélever la substance destinée aux cultures dans l'organe à examiner, nous plongions un fil de platine rigide, stérilisé, dans la masse, après avoir pratiqué des sections successivement perpendiculaires avec un couteau porté au rouge. On prenait, dans chaque organe, des fragments du volume d'une grosse tête d'épingle.

Les cultures étaient instituées de la façon suivante : un fragment d'organe (ou une « œsel » quand il s'agissait de sang ou de transsudat) était ensemencé dans un tube de gélatine nutritive alcalinisée; celle-ci était liquéfiée à douce chaleur, et, au moyen de ce tube dit « original », on obtenait une ou deux dilutions dans d'autres tubes de gelée; et chaque tube était déversé sur plaque.

Parfois, nous avons fait des cultures anaérobies en tubes de Roux.

De plus, et régulièrement, on pratiquait des ensemencements en bouillons phéniqués (trois gouttes d'acide phénique à 5 % pour 10 c. c. de bouillon) mis à l'étuve à 42°; si, après dix-huit heures, un trouble s'était produit, on ensemençait une seconde série de tubes, et de celle-ci une troisième.

Toutes ces cultures en bouillons phéniqués ont l'avantage d'éliminer un grand nombre de microbes autres que le « bacterium coli » ou le bacille de Gaffky (1). Pour isoler ces derniers, on pratiquait ultérieurement des cultures sur plaques de gélatine.

(1) Ce court passage en bouillons phéniqués n'est pas suffisant pour provoquer les modifications notables du « bacterium coli » que l'on observe par un plus long séjour dans ce milieu. Après trois passages en bouillons phéniqués, de dix-huit heures en dix-huit heures, le *microbe d'Escherich peut encore être caractérisé comme tel,* bien que quelques changements se manifestent déjà dans ses propriétés de culture.

Observation I. — Homme, 65 ans, autopsié dix-huit heures après la mort; corps fort bien conservé.

Diagnostic clinique : Fracture compliquée de l'avant-bras; (malade pendant dix jours).

Diagnostic anatomique : Fracture compliquée de l'avant-bras; fractures du bassin, grandes ecchymoses sous-péritonéales.

OEdème pulmonaire.

Cultures.	*Liquide du péritoine* (cavité). *Veine mésentérique* . . . *Ganglion mésentérique* . .	Plaques de gélatine aérobies et anaérobies. Bouillons phéniqués à 42°.
	Foie . . . . . *Rate*	Plaques de gélatine aérobies. Bouillons phéniqués à 42°.

Résultats.

Toutes les cultures du liquide de la cavité abdominale, de la veine et du ganglion mésentériques sont restées stériles.

Foie. — Après trois jours, la plaque originale montre environ quatre cents colonies, assez bien séparées l'une de l'autre, la plupart enfouies dans la gelée, d'un blanc jaunâtre, toutes les mêmes : disques à bords nets, sans structure bien visible; puis, environ vingt colonies étalées à la surface, très minces, pelliculaires, serpigineuses, un peu bleuâtres; au microscope, aspect typique d'une mer de glace.

Ces colonies étalées sont formées par un petit bacille grêle de 3 à 4 μ de long, fort mobile dans le champ du microscope. Il se décolore par le Gram.

Rate. — Les plaques de culture ont absolument le même aspect; les colonies sont aussi nombreuses de part et d'autre.

Les bouillons phéniqués du foie et de la rate se sont troublés à 42°; après trois passages successifs de dix-huit heures en dix-huit heures, on a obtenu, sur plaques de gélatine, les mêmes colonies que les précédentes.

Caractères des colonies étalées.

Tubes de gélatine ordinaire en piqûre. — Après cinq jours, à 18°, dépôt très mince, grisâtre, translucide, atteignant presque les parois du tube, à bords sinueux; trait de piqûre en dents de scie; coloration jaune brunâtre de la gélatine.

Pas de liquéfaction de la gélatine même après deux mois.

Pommes de terre en tubes de Roux à 18°-20°. — Après trois jours, très

léger dépôt jaunâtre le long du trait; après six jours, un peu plus épais et plus large; mais le développement n'a pas atteint toute la tranche.

Lait à 37°. — Ces colonies n'ont pas coagulé le lait : après trois semaines, le lait était toujours parfaitement mobile, pas même épaissi, riche en bacilles. Cette non-coagulation du lait a été vérifiée par une seconde série d'ensemencements.

Gélatine maltosée. — Les colonies ont à peine prospéré : très fin dépôt, très restreint, formé de bacilles en boudin.

Bouillon alcalin peptonisé. — Très légère réaction rose de l'indol, après huit jours à 37°, mais beaucoup plus faible que la réaction normale du coli.

De l'ensemble de ces caractères, nous devons conclure que nous avons eu affaire à *un microbe présentant certains caractères importants du bacille de Gaffky (propriétés zymotiques réduites au minimum), et d'autres propriétés le rattachant au coli-bacille* (réaction de l'indol).

Observation II. — Homme, 70 ans, autopsié vingt-trois heures après la mort, temps très froid; corps en parfait état de conservation.

Diagnostic anatomique : Hypertrophie de la prostate; dilatation de la vessie; hydronéphrose. (Il s'agit d'une affection chronique, très ancienne.)

Cultures. . .	*Veine mésentérique.* . . .	Plaques de gélatine aérobies.
	Transsudat péritonéal. . .	
	Ganglion mésentérique . .	
	Foie	Plaques de gélatine aérobies. Bouillons phéniqués à 42°.
	Rate	

Seules, les cultures du foie et de la rate ont prospéré.

Plaques de gélatine :

Foie. — La plaque originale montre, après trois jours, environ cinq cents colonies, ayant absolument, tant les colonies profondes que les colonies superficielles, les caractères décrits dans l'observation I : les descriptions se superposent absolument. On ensemence dans les divers milieux.

La seule différence consiste en ce que les bacilles sont un peu plus longs en général, mais les petits exemplaires sont fort mobiles (vibrations et déplacements).

Rate. — La plaque originale fournit les mêmes colonies, mais en moins grand nombre, une centaine environ; de plus, il y a une dizaine de colonies d'un bacille liquéfiant fortement la gélatine.

Bouillons phéniqués à 42° :

Foie. — Troubles trois fois de suite. Dans les plaques faites avec le troisième bouillon, on voit des colonies très serrées, les unes superficielles, très minces, mais s'étalant peu (à cause de leur densité). On ensemence dans les divers milieux.

Rate. — Chose curieuse, il ne s'est développé dans les plaques issues du bouillon de troisième passage, que des colonies rapidement liquéfiantes, semblables à celles de la plaque de rate n'ayant pas passé par l'acide phénique, et formées par un long bacille.

Il est probable que ce bacille, proliférant plus activement dans le bouillon phéniqué que les autres microbes, a étouffé ces derniers.

Étude des colonies.

Colonies superficielles de la plaque *foie* (ensemencée directement) :

Gélatine alcaline en tubes. — C'est l'aspect classique de la variété transparente du « bacillus coli » ou du Gaffky; on observe notamment une coloration brunâtre très nette du trait.

Pommes de terre à 18°. — Dépôt épais, abondant, large, de couleur jaunâtre, luisant.

Lait à 37°. — Coagulum compact, vacuolé, réaction fortement acide, après six jours.

Gélatine maltosée. — Couche épaisse, crémeuse.

Bouillon alcalin. — Réaction de l'indol.

Petit lait au tournesol. — 10 c. c. après dix jours à 37° : le liquide a fortement rougi : il a fallu ajouter 0cc,21 de soude au $^1/_{10}$ pour ramener au bleu.

Colonies étalées de la plaque *rate* (directement) : mêmes constatations, sauf des différences insignifiantes.

Cultures après bouillons phéniqués. — Ces colonies se sont comportées dans les divers milieux comme les précédentes, mais avec cette différence que le lait s'est coagulé plus lentement, que la gélatine au moût de bière a donné une couche moins considérable, que la culture sur pommes de terre était beaucoup moins épaisse et moins large; le petit-lait au tournesol a rougi, après dix jours à 37°, mais il n'a fallu que 0cc,15 de soude au $^1/_{10}$ pour ramener au bleu.

Toutes ces particularités sont dues vraisemblablement à ce fait, que ces colonies étaient issues de microbes soumis à l'action de l'acide phénique.

C'est donc le « bacterium coli commune » qui a été constaté dans les organes de ce cadavre.

Observation III. — Femme, 38 ans, autopsiée vingt heures après la mort; le corps ne présente pas de signes extérieurs de putréfaction.

Diagnostic anatomique : Cirrhose hépatique; hypertrophie de la rate; ascite; congestion pulmonaire; néphrite interstitielle chronique aux débuts.

Cultures. . . { *Veine mésentérique* : plaques aérobies et anaérobies.
Foie et *rate* : plaques aérobies et bouillons phéniqués à 42°.

Les cultures de la veine mésentérique sont restées stériles.

Foie. — Plaque ensemencée directement :

Un très grand nombre de colonies, cinq cents environ, les unes profondes, toutes de même aspect, les autres étalées, serpigineuses, extrêmement minces (mer de glace).

Rate. — Ici les plaques n'ont rien donné.

Foie. — Après bouillon phéniqué de troisième passage :

La plaque originale montre de très belles cultures étalées, etc., comme la variété transparente du coli ou du Gaffky, et de nombreuses colonies profondes, globuleuses.

Au microscope, bacilles à bouts arrondis, de 3 à 4 μ de long, très mobiles.

Rate. — Bouillons phéniqués stériles.

Étude des colonies du foie (plaque aérobie directement ensemencée).

Gélatine en tube. — Aspect de la variété transparente du coli ou du Gaffky, coloration brunâtre du trait, pas de liquéfaction.

Pommes de terre à 18°-20°. — Après quatre jours, les cultures ont absolument l'aspect « classique » du microbe de Gaffky : pas de dépôt visible, la tranche est « glacée »; en y promenant l'aiguille de platine, on enlève une sorte de glaire muqueuse; au microscope, celle-ci montre une infinité de petits bacilles très mobiles, rappelant absolument les microbes de Gaffky. Les tranches ont présenté cet aspect jusqu'au huitième jour, puis un très léger dépôt jaunâtre s'est montré, mais il est resté extrêmement peu prononcé (rappelant certaines cultures du bacille de Gaffky).

Lait à 37°. — Coagulum, mais après huit jours.

Gélatine maltosée. — Dépôt mince, plus considérable que les cultures du Gaffky, mais moins abondant que celles du coli-bacille.

Bouillon alcalin. — Réaction de l'indol.

Quant aux *colonies obtenues après l'action de l'acide phénique en bouillon*, sur plaques, elles ont fourni, sur les divers milieux, les mêmes caractères, mais, comme pour l'observation II, avec un retard prononcé dans leur apparition.

Nous avons donc eu affaire ici à *un microbe qui, à l'époque où l'on caractérisait le bacille de Gaffky surtout par les cultures sur pommes de terre, eût été certainement rattaché à ce micro-organisme; mais, au point de vue zymotique, il s'est comporté comme un coli-bacille, un peu modifié, il est vrai.*

Observation IV. — Homme, 66 ans, autopsié dix-sept heures après la mort; la rigidité cadavérique persiste encore; corps en excellent état de conservation.

Diagnostic anatomique : Pleuropneumonie franche aiguë typique de tout l'organe gauche. Hypertrophie très considérable (21-14-4) et ramollissement de la rate.

Reins : signes d'altérations anciennes, adhérences des capsules, substance corticale amincie et sclérosée.

Cultures. . .	*Transsudat de la cavité abdominale.*	Plaques aérobies et anaérobies.
	Veine mésentérique (sang)	Bouillons phéniqués à 42°.
	Foie et *rate* : plaques aérobies, bouillons phéniqués à 42°.	

Le transsudat abdominal et le sang de la veine mésentérique n'ont rien donné.

Foie. — Plaque ensemencée directement :
Après quatre jours, trois espèces de colonies :

Colonies *A.* — Profondes, globuleuses, jaunâtres, circulaires, formées par un bacille ayant les dimensions du coli ou du Gaffky.

Colonies *B.* — Étalées, très minces, comme la variété transparente du Gaffky (mer de glace), bacilles mobiles.

Colonies *C.* — Étalées, épaisses, comme la variété opaque du Gaffky.
Rate. — Mêmes résultats : seulement, colonies moins nombreuses.

Étude des colonies.

Colonies *A.* — Ces colonies ont fourni les caractères du « bacterium coli commune ».

Colonies *B.* — *Gélatine en tubes.* — Aspect classique de la variété transparente du Gaffky. En goutte pendante, bacilles à bouts arrondis, nettement

mobiles (oscillations pendulaires, déplacements rapides dans le champ). Par la coloration Ziehl, les images ont absolument l'aspect de la figure 110 de l'atlas microphotographique de Fränkel.

Pommes de terre à 18°-20°. — Les tranches n'ont pas présenté de dépôt visible; leur aspect était seulement très humide; nombreux bacilles mobiles, comme dans les cultures du Gaffky. Même après trois semaines, il n'existait pas de couche jaunâtre ou brunâtre à la surface des tranches.

Lait à 37°. — Pas de coagulation même après un séjour de trois semaines à 37°.

Gélatine au moût de bière. — A peine un très mince trait formé par quelques rares colonies très petites.

Bouillons alcalins peptonisés. — Pas de réaction de l'indol.

Colonies *C.* — Les colonies se sont comportées dans les divers ensemencements comme le « bacterium coli commune ».

Foie et rate en bouillons phéniqués à 42°. — Ces bouillons se sont troublés, et, après trois passages, on a obtenu, dans les plaques, des colonies étalées à la surface de la gelée.

Ces colonies ont fourni des caractères qui doivent les faire rattacher au « bacterium coli » (lait coagulé, etc.).

En résumé, dans les organes de ce malade nous avons trouvé *un mélange de microbes dont les uns doivent être rattachés au bacterium coli (et c'est la majorité), les autres au microbe de Gaffky.*

Observation V. — Homme, 55 ans, autopsié dix-neuf heures après la mort; pas de putréfaction extérieure.

Diagnostic anatomique : Emphysème pulmonaire; dilatation et hypertrophie du cœur droit; œdème des poumons.

Rate : 11-6-3 1/2, parenchyme assez ferme.

Reins : forte congestion.

Cultures . . . { *Foie* . . . . / *Rate* . . . . } Plaques aérobies et bouillons phéniqués.

Foie. — Plaque ensemencée directement: après quatre jours, on observe une cinquantaine de colonies de deux aspects différents; les unes sont étalées à la surface de la gelée, assez épaisses, opaques, à contours un peu sinueux, de 2 à 3 millimètres de diamètre, avec un ombilic saillant au centre = colonies *A ;* les autres, moins nombreuses, sont des colonies jaunâtres, liquéfiant la gélatine autour d'elles = colonies *B.*

Rate. — On note les mêmes colonies, mais en moins grand nombre.

Foie. — Au moyen du bouillon phéniqué de troisième passage, ense-

mencé sur plaques, on n'a obtenu que des colonies liquéfiantes, semblables à *B*, = colonies *F*.

Rate. — Après bouillons phéniqués, même résultat.

Ici, on n'a plus obtenu de colonies liquéfiantes, mais seulement un grand nombre de colonies très minces, pelliculaires, serpigineuses comme la variété transparente du coli-Gaffky = colonie *A'*.

Étude des colonies.

Colonies *A*. — *Gélatine ordinaire en tube.* — Dépôt assez mince, grisâtre, à bords onduleux, assez étalé, couleur brunâtre du trait. C'est un bacille mobile, mais un peu plus court et plus trapu que le Gaffky normal, décoloré par le Gram.

Pommes de terre à 18°-20°. — Après huit jours, pas le moindre dépôt visible, et cependant la tranche fourmille de bacilles semblables aux précédents, mais un peu plus longs.

Lait à 37°. — Pas de coagulation.

Bouillon à 37°. — Pas d'indol.

Colonies *B*. — La gélatine s'est liquéfiée lentement : entonnoir de liquéfaction, avec précipité blanchâtre au fond : c'est un « coccus » rappelant beaucoup le « staphylococcus pyogenes ».

Colonies *F*. — Mêmes caractères que *B*.

Colonie *A'*. — *Gélatine en tubes.* — Comme *A*, seulement le bacille est plus allongé.

Pommes de terre. — Dépôt jaunâtre, épais, mais s'étalant peu.

Lait. — Coagulum ferme, vacuolé, réaction fortement acide.

Bouillon. — Réaction nette de l'indol.

En résumé, les cultures ont fourni chez ce cadavre trois sortes de colonies principales : *les unes ont présenté les caractères les plus importants du bacille de Gaffky ; d'autres doivent être rattachées au « bacterium coli »; enfin les troisièmes appartenaient à un coccus, vraisemblablement de l'espèce « staphylococcus pyogenes ».*

Observation VI. — Homme, 66 ans, autopsié vingt-quatre heures après la mort.

Diagnostic anatomique : Cancer de l'œsophage et de la trachée, emphysème pulmonaire, appendicite.

Appendicite : L'appendice vermiculaire est très developpé ; il ne

communique plus avec l'intestin; il existe une atrésie ancienne du point d'abouchement dans l'intestin; l'organe est rempli d'un liquide puriforme gris rougeâtre. Pas de lésions intestinales, pas de tuméfaction de la rate et des ganglions mésentériques. La muqueuse de l'appendice est un peu tuméfiée, molle, nullement ulcérée.

Cultures. . .	*Contenu de l'appendice.*	Plaques aérobies et bouillons phéniqués.
	Foie.	
	Rate	

Foie (plaque ensemencée directement). — Après trois jours, une centaine de colonies dont une vingtaine sont étalées à la surface de la plaque, et ont l'aspect, déjà tant de fois décrit, de la variété transparente (mer de glace) du coli ou du Gaffky.

Rate (plaque ensemencée directement). — On trouve les mêmes colonies, mais en nombre moins considérable; seulement les colonies sont plus grandes, plus étalées, en raison sans doute de leur moins grand nombre.

Contenu purulent de l'appendice. — Un très grand nombre de colonies semblables aux précédentes, très fines, transparentes (mer de glace), etc.; il n'y en a pas d'autres, notamment pas d'espèces liquéfiantes.

Bouillons phéniqués.— Tous se sont troublés à 42°, et dans trois passages successifs. Seulement, nous n'avons pas fait d'ensemencements ultérieurs, en raison des résultats très probants des premières cultures.

Étude des colonies.

Colonies étalées du foie et de la rate. — Ces colonies ont donné les *caractères généraux du « bacterium coli »*, mais avec les différences que l'on note d'habitude pour le microbe prélevé dans les organes internes.

Colonies de l'appendice. — *Gélatine en tube droit.* — Aspect typique de la variété transparente du Gaffky, particulièrement net dans ce cas. Pas de liquéfaction, même après un mois; petits bacilles mobiles, décolorés par le Gram.

Pommes de terre à 18°-20°. — Certaines colonies ont donné ici l'aspect typique de la culture glacée du microbe de Gaffky: pas le moindre dépôt visible et nombreux bacilles obtenus par le raclage. D'autres colonies ont fourni un très mince dépôt jaune brunâtre, mais très ténu, dépassant à peine le trait d'ensemencement, nullement comparable à la culture habituelle du coli.

Lait à 37°. — Tous les tubes sont restés liquides. Pas la moindre coagulation, même après un séjour d'un mois à 37°, et l'expérience a été répétée trois fois (trois séries) avec les mêmes résultats; réaction acide du liquide.

Gélatine-malt. — Développement très restreint.

Bouillons. — Très légère réaction de l'indol.

En résumé, chez ce malade, on trouvait dans le foie et la rate *des colonies caractérisées comme bacilles d'Escherich;* mais *au sein d'une lésion de suppuration développée dans l'appendice vermiculaire ayant perdu sa communication avec l'intestin, nous avons retrouvé un micro-organisme que nous devons considérer comme se rattachant bien plus au bacille de Gaffky, par l'absence presque complète d'action sur les sucres, qu'au microbe du côlon.* Il est vrai qu'il présentait une très légère différence, la seule peut-on dire, avec le microbe de Gaffky: il donnait une très légère réaction de l'indol, mais nous avons montré que ce signe était bien moins important que les caractères zymotiques, et que l'on obtenait parfois cette réaction avec le bacille de Gaffky.

Observation VII.— Homme, 32 ans, autopsié vingt heures après la mort.

Diagnostic anatomique : Tuberculose pulmonaire ; ulcères tuberculeux de l'intestin, tuberculose du péritoine, cirrhose hépatique, hypertrophie de la rate.

Cultures. . . { *Foie.* . . / *Rate.* . . } En bouillons phéniqués à 42°.

Ces bouillons se sont troublés dans trois passages successifs; puis on a fait des plaques de gélatine.

Foie. — Une seule espèce microbienne : colonies profondes, globuleuses, jaunâtres, et colonies étalées, très minces, sinueuses, bleuâtres, montrant la mer de glace au microscope. C'est un bacille, de part et d'autre, décoloré par le Gram, mobile, de 3 à 4 μ de long, à bouts arrondis.

Rate. — Mêmes constatations.

Étude des colonies.

Toutes les colonies ont donné les mêmes caractères, c'est-à-dire l'ensemble des signes du « bacterium coli commune » : dépôt mince, étalé sur gélatine; pas de liquéfaction de celle-ci; couleur brunâtre du trait; couche assez abondante, jaunâtre, sur pommes de terre; coagulation assez rapide du lait, réaction de l'indol dans les bouillons alcalins; cultures sur petit-lait tournesolé, fortement rougies (il a fallu, pour 10 c. c., 0cc,19 de soude au $^1/_{10}$ pour ramener au bleu).

Observation VIII. — Homme, 20 ans, de taille moyenne, de constitution assez forte. Malade pendant trois à quatre jours seulement avant son entrée à l'hôpital. Symptômes d'inflammation des reins. Mort après quatre jours à la clinique. (On n'a pas observé de taches rosées lenticulaires.) Autopsie vingt et une heures après la mort (temps froid).

Reins volumineux, congestionnés, d'un blanc jaunâtre; nombreuses petites ecchymoses récentes; l'examen microscopique démontre qu'il s'agit d'une néphrite parenchymateuse aiguë.

Poumons : forte congestion des bases.

Rate : 14 centimètres de longueur, pulpe ramollie, brunâtre.

Pas la moindre lésion de l'intestin, pas de tuméfaction des ganglions mésentériques.

Cultures faites : Trois plaques de gélatine aérobies avec la *rate*.

Résultats.

Après quatre jours, les plaques originales montrent de nombreuses colonies, dont un grand nombre étalées à la surface de la gelée, fort minces, serpigineuses, presque transparentes, bleuâtres, de 2 à 3 millimètres de diamètre, les autres enfouies dans la profondeur, toutes les mêmes, globuleuses, jaunâtres. Les cultures étalées montrent l'aspect d'une mer de glace au microscope, après l'interposition d'un diaphragme à trois branches.

C'est un bacille de 3 à 4 μ de long en général, mais avec des formes filamenteuses assez nombreuses, très mobile, se décolorant par le Gram; le microbe a absolument l'aspect du bacille de Gaffky.

Ces colonies ont été cultivées sur les divers milieux.

Étude des colonies.

Toutes ont donné les caractères généraux suivants :

Tubes droits de gélatine alcaline. — C'est absolument l'aspect classique de la variété transparente du microbe de Gaffky : dépôt très étalé à la surface, presque transparent, à bords dentelés; trait de piqûre de coloration brunâtre; pas de liquéfaction.

Pommes de terre à 18°-20°. — Après cinq jours, pas de dépôt visible, aspect humide de la tranche; mêmes caractères après dix jours, et, dans cette couche humide, bacilles innombrables, les uns de 3 à 4 μ de long, les autres en filaments, etc.; les formes courtes sont très mobiles.

Après quinze jours, on ne voit pas encore de dépôt à la surface des

tranches, ni même après trois semaines. (Ces caractères ont été vérifiés constants dans une seconde série de cultures.)

Lait à 37°. — Les cultures n'ont pas présenté la moindre coagulation, même après un séjour de quatre semaines à l'étuve (essais répétés deux fois).

Bouillons alcalins peptonisés. — Pas la moindre réaction de l'indol.

Gélatine au moût de bière. — Les ensemencements n'ont donné qu'une traînée à peine perceptible : au microscope, bacilles en boudin.

Cette observation fournit le plus bel exemple que l'on puisse rencontrer de présence exclusive du bacille de Gaffky chez un malade non atteint de fièvre typhoïde.

Observation IX. — Homme, 50 ans, autopsié vingt-quatre heures après la mort, corps très bien conservé.

Diagnostic anatomique : cancer du pylore, gastrectasie, œdème pulmonaire.

Cultures. . . { *Foie* . . . / *Rate*. . . } En bouillons phéniqués.
{ *Sang de la veine mésentérique* : en plaque aérobie.

Les cultures du foie et de la rate en plaques aérobies ont été perdues par suite de leur liquéfaction intempestive, par l'augmentation subite de la température de la chambre où elles étaient conservées. Mais les bouillons phéniqués ont donné des résultats suffisants pour que cette perte de plaques soit compensée.

Sang de la veine mésentérique. — Stérile.

Bouillons phéniqués du foie et de la rate. — Ils se sont troublés dans trois passages successifs à 42°; puis on a fait des plaques avec les bouillons de troisième passage.

Résultats.

Foie. — Les plaques montrent des colonies profondes, toutes les mêmes, petites, globuleuses, jaunâtres, complètement circulaires, et des colonies superficielles, étalées à la surface de la gelée, mais restées petites comme des têtes d'épingles, presque circulaires, fort peu sinueuses sur les bords (les colonies étaient très serrées, d'où leur peu de tendance à l'étalement); dans quelques-unes, on distingue nettement au microscope l'aspect d'une mer de glace. C'est un bacille ayant l'aspect du coli-Gaffky, assez mobile, décoloré par le Gram.

Rate. — Ici les colonies sont moins serrées; aussi les colonies superficielles sont-elles plus largement étalées, serpigineuses : elles ont l'aspect

typique de la variété transparente du microbe de Gaffky ou du « bacillus coli », bacilles semblables à ceux du foie.

Ces colonies ont été caractérisées sur les divers milieux; elles ont fourni les mêmes données :

Tubes de gélatine alcaline. — Aspect classique de la variété transparente, déjà si souvent décrit.

Pommes de terre à 18°-20°. – Après trois jours, on distingue, dépassant à peine le trait d'ensemencement, un dépôt linéaire, assez saillant, de couleur jaunâtre; tout le reste de la tranche est d'aspect glacé, et, en prélevant une parcelle de tubercule à la périphérie, on voit au microscope une infinité de bacilles très mobiles, à mouvements d'oscillation et de déplacement rapides.

La culture a continué à prospérer les jours suivants, mais fort peu; ce n'est qu'après quinze jours que la bande a atteint près de 1 centimètre de large; on se souvient que le coli-bacille normal fournit une purée abondante dans ces conditions (il est vrai qu'il s'agit ici de bacilles phéniqués).

Lait à 37°. — Les cultures n'ont pas présenté de coagulation, même après un séjour de trois semaines à 37°; le liquide était devenu acide.

Gélatine maltosée. – Culture très restreinte.

Bouillons alcalins. — Très légère réaction rose de l'indol.

Par l'ensemble de ces caractères, le microbe constaté au sein des organes de ce cadavre *constitue un parasite intermédiaire entre le coli-bacille et le microbe de Gaffky, mais bien plus voisin de ce dernier microbe (action sur les sucres très faible, cultures glacées sur pommes de terre) que du « bacterium coli ».*

Observation X.— Femme, 61 ans, autopsiée vingt-quatre heures après la mort.

Diagnostic anatomique : Extirpation d'une tumeur fibreuse considérable de l'ovaire et du ligament large, à gauche. Compression de l'urétère gauche, dans le petit bassin; dilatation de cet urétère, des calices et bassinet de ce côté; nécroses et suppuration du rein gauche.

Cultures . . . { *Rate* . . . / *Rein* . . . } Plaques de gélatine aérobies.

Résultats.

Rate. — La plaque originale montre, après trois jours, environ cinq cents colonies, dont un très grand nombre sont étalées à la surface, mais restées petites, très minces (mer de glace au microscope); les autres, petites, globuleuses, enfouies dans la profondeur. Il n'y a pas d'autres colonies.

Rein.— La plaque originale montre des colonies tellement serrées, qu'on ne peut les isoler.

La première dilution laisse apercevoir des colonies assez discrètes, profondes, globuleuses, jaunâtres ; pas de colonies étalées à la surface.

Étude des colonies.

Colonies de la rate. — Toutes ces colonies ont fourni les caractères suivants :

Tubes droits de gélatine. - Dépôt grisâtre, peu étalé, assez épais, à bords sinueux ; couleur brunâtre de la gélatine autour de la pointe d'enfoncement; pas de liquéfaction. C'est un bacille ayant la dimension du coli-Gaffky, mobile, ne prenant pas le Gram.

Pommes de terre à 18°-20°. — Après sept jours, on ne voit pas le moindre dépôt : les tranches sont humides et présentent d'innombrables bacilles grêles, souvent en filaments de 7 à 8 μ.

Gélatine à l'eau de malt. — Développement très restreint.

Lait. — Coagulation après huit jours à 37°.

Bouillons alcalins. – Réaction légère de l'indol.

Colonies du rein. *Tubes droits de gélatine.* — Dépôt peu étalé, saillant, en clou ; couleur brunâtre du trait; pas de liquéfaction ; bacille un peu plus gros et plus court que les précédents.

Pommes de terre à 18°-20°. — Dépôt épais, mais peu étalé, jaunâtre, très luisant ; bacilles courts, fort peu mobiles.

Lait. — Coagulation après quatre jours ; beaucoup de bulles gazeuses.

Bouillons alcalins. — Réaction rose de l'indol.

En résumé, nous avons constaté, chez cette malade, la *présence dans la rate de bacilles du côlon, ou tout au moins de microbes très voisins. (Remarquons, encore une fois, qu'au temps où l'on caractérisait le bacille de Gaffky par la culture sur pommes de terre, ce microbe eût été rattaché à l'organisme dit « typhique ».)*

Dans le rein malade et en voie de suppuration (à la suite d'une urétérite ascendante), nous avons trouvé un *bacille dont tous les caractères de culture font immédiatement penser à un microbe* sur lequel l'attention vient d'être attirée par divers observateurs, et dont il a été beaucoup question à la Société de biologie (1). On

(1) Reblaud. *Sur l'identité de la bactérie pyogène urinaire et du « bacterium coli commune ».* (*Soc. de biologie*, 19 décembre 1891.) — Achard et Renault. *Ibid* (*Soc. de biologie*, 12 décembre 1891.) — Morelle. *Étude bactériologique sur les cystites.* (*La Cellule*, t. VII.)

est généralement d'accord pour considérer ce parasite comme appartenant à une variété du *bacterium coli;* et cette constatation est une nouvelle preuve en faveur de la diversité des activités de ce microbe. C'est le même agent parasitaire qui avait été décrit par Clado, Albarran et Hallé sous le nom de « bactérie pyogène urinaire ».

On a pu produire expérimentalement l'inflammation du rein et des urétères par l'injection de ces bacilles.

Observation XI. — Homme, 58 ans, autopsié vingt-quatre heures après la mort. Temps froid.

Cancer de l'estomac, œdème pulmonaire.

Cultures	*liquide péritonéal.* . . .	Plaques aérobies et anaérobies.
	veine mésentérique (sang) .	
	ganglion mésentérique. .	

Ces cultures sont restées stériles.

RÉSUMÉ.

Il nous eût été possible de soumettre à ces investigations microbiologiques un nombre de cadavres plus élevé : nous avons pensé que les résultats de nos constatations suffisaient pour éclairer les questions que nous nous étions posées.

Si nous résumons ces recherches, nous trouvons : dans les organes de dix cadavres frais, provenant de malades ayant succombé à des affections variées ne rentrant pas dans le cadre de la fièvre typhoïde, nous avons décelé, dans chacun des cas, des micro-organismes plus ou moins nombreux.

C'est le foie et la rate qui sont le siège le plus habituel de ces micro-parasites; le sang n'a pas paru contenir de bactéries.

Quant à la nature de ces microbes, on peut dire qu'ils ont présenté les caractères généraux soit du coli-bacille, soit du bacille de Gaffky. (Rarement on a observé quelques espèces liquéfiant la gélatine.)

Quant à la fréquence relative de ces microbes, nous avons trouvé deux fois le « bacterium coli » (reconnaissable à ses

principaux caractères peu modifiés) à l'exclusion de tout autre micro-organisme. (Observations II et VII.)

Trois fois le coli-bacille existait dans les organes, en même temps que d'aùtres microbes dont les uns étaient tantôt des parasites semblables au bacille de Gaffky, tantôt des organismes présentant des caractères intermédiaires entre le microbe du côlon et celui de Gaffky. (Observations IV, V, VI.)

Un parasite ayant les principales propriétés au moyen desquelles on reconnaît le microbe décrit par Gaffky, s'est retrouvé, à l'exclusion de toute autre bactérie, dans un cas (observation VIII), et à côté du « bacterium coli » ou de bacilles plus ou moins voisins, dans trois autres cas. (Observations IV, V, VI.)

Des microbes se présentant, par certains caractères, sous les apparences du coli-bacille, par d'autres sous celles du bacille de Gaffky, ont été découverts, seuls dans quatre cas (observations I, III, IX, X), à côté du « bacterium coli » dans une observation (VI).

Enfin, deux fois les cultures ont donné, soit à côté du « bacterium coli », soit en même temps qu'un microbe plus ou moins semblable à celui de Gaffky, tantôt des staphylocoques (observation V), tantôt un bacille liquéfiant (observation II).

Conclusions de l'étude bactériologique de cadavres divers.

L'étude bactériologique que nous avons faite de dix cadavres pris au hasard dans un service d'autopsies et examinés dans les conditions où l'on s'est placé jusqu'à présent pour les recherches microbiologiques sur le corps humain, a abouti à cette constatation, d'une très grande importance, que dans les principaux organes de la plupart des personnes mortes d'affections même chroniques, se trouvent déjà des microbes nombreux, quelques heures seulement après la mort (1).

En général, ces microbes appartiennent à l'espèce « bacterium coli » d'Escherich, mais cette espèce est loin de se retrouver dans les cadavres avec les divers caractères que nous lui reconnaissons quand nous la prélevons fraîchement dans les matières fécales. Tantôt le microbe peut être caractérisé assez facilement comme

(1) Würtz et Herman *(loco citato)* sont arrivés aux mêmes constatations.

tel, mais bien souvent il apparaît tellement modifié, tellement dévié, si l'on veut, de son type habituel, que l'on se demande à quel bacille on a affaire, et que, pour l'observateur non prévenu, *il rappelle bien plus le bacille de Gaffky que celui d'Escherich.*

Une première question qui vient immédiatement à l'esprit à propos de ces constatations, est celle de savoir à quel moment précis ces microbes de cadavres ont envahi les organes.

A première vue, il paraît naturel d'interpréter ces faits par des phénomènes de putréfaction : le coli-bacille, extrêmement abondant dans le tube intestinal, se propagerait après la mort en dehors de l'intestin. Il est généralement admis, d'autre part, d'après toute une série d'expériences classiques de Pasteur, Hauser, Zahn, Fodor, etc., que les tissus vivants sont protégés, à l'état normal, contre l'envahissement des micro-organismes de l'extérieur ou des grandes cavités naturelles du corps.

Mais plus nous avons creusé cette question, plus nous nous sommes convaincu que l'explication de l'invasion microbienne des organes de cadavres par la putréfaction ne pouvait nous rendre compte des faits.

En effet, on peut encore, à la rigueur, expliquer par des phénomènes cadavériques la présence de bacilles de l'intestin dans le foie : celui-ci communique largement avec le tube digestif par les voies d'excrétion de la bile. Mais ce n'est pas seulement dans le foie que nous avons découvert des bacilles sur le cadavre : la rate en présentait, et souvent en tout aussi grand nombre.

Si les microbes trouvés dans la rate des cadavres sont venus de l'intestin après la mort, ou bien ils ont envahi progressivement et peu à peu, sans suivre de direction particulière, les tissus qui séparent la rate du contenu intestinal. Cette hypothèse ne paraît guère vraisemblable, car nous n'avons pas décelé les microbes trouvés dans la rate ni dans le mésentère, ni dans la cavité abdominale.

Peut-être les parasites ont-ils cheminé le long des vaisseaux sanguins ou lymphatiques? Mais alors, nous devions obtenir des cultures positives du sang des veines mésentériques et des ganglions. Or, il n'en a rien été.

Nous sommes amené ainsi à nous demander s'il ne s'agirait pas là d'une pénétration intra-vitale des micro-organismes.

Il faut bien dire que la plupart des expériences instituées pour

démontrer la protection absolue des organes internes contre l'envahissement des microbes pendant la vie, ont été entreprises sur des animaux sains. C'est ainsi que le dernier travail paru sur ce sujet, et dû à Sergi Trombetta (1), contient des expériences faites sur des cobayes, des souris, etc., sacrifiés brusquement et abandonnés à eux-mêmes pendant un temps variable, avant que leurs organes fussent soumis aux cultures. Mais ces conditions sont loin d'être celles qui sont réalisées dans les recherches que les bactériologistes entreprennent sur la table d'autopsies des hôpitaux. Ici, l'on a affaire à des individus ayant succombé à des affections aiguës ou chroniques. Ce n'est certes pas aller trop loin que d'avancer qu'il n'y a pas le moindre rapprochement à établir entre un pneumonique, un cardiaque, un cirrhotique succombant, après une longue agonie, avec tous les organes profondément altérés, dans un lit d'hôpital, et un cobaye ou une souris bien vivants que l'on sacrifie pour les besoins d'une expérience. Évidemment, les barrières épithéliales qui, chez l'individu sain, protègent les tissus contre l'envahissement des parasites contenus dans les cavités du corps en communication avec l'extérieur, sont loin d'être intactes chez les malades. Serait-il impossible que, dans des conditions aussi désavantageuses pour l'organisme, il se produisît *déjà sur le vivant*, à un moment plus ou moins éloigné de la mort, un envahissement de l'organisme par des bactéries venues de l'intestin?

Ces bactéries, on ne les retrouve guère dans le sang du cadavre : mais on sait précisément, d'après les expériences classiques de Fodor, Wyssokowitsch, etc., que les microbes qui ont pénétré à un moment donné dans le sang sur le vivant, disparaissent rapidement de la circulation pour aller se localiser dans le foie et la rate. Or, c'est précisément dans ces organes, et non dans le sang de la circulation, que nous avons retrouvé en plus grand nombre les microbes des cadavres.

Nous savons bien que pour établir la réalité de l'hypothèse que nous émettons ici, il faudrait constater l'existence de ces microbes sur le vivant par des ponctions répétées des organes (2). Nous ne

(1) *Die Fäulnissbakterien und die Organe und das Blut ganz gesund getödteter Thiere.* (*Centralblatt für Bakteriologie,* Nr 20, 1891, Bd. X.

(2) Bouchard a réussi à provoquer, sans vulnération, l'apparition de microbes dans la circulation d'animaux sains en soumettant ceux-ci au froid, au surmenage, etc. (*Traité de médecine,* 1891, t. I, p. 147.)

nous sommes pas cru autorisé à nous livrer à ces recherches, malgré le haut intérêt scientifique du problème, parce que nous avons pensé que nous n'avions pas le droit de les instituer sur un malade agonisant.

Quoi qu'il en soit, nous croyons que l'on ne peut guère interpréter autrement que par un envahissement effectué, au moins en partie, sur le vivant, la présence de bacilles dans les organes des cadavres que nous avons étudiés.

D'ailleurs, que ces microbes soient apportés dans les organes pendant la vie, ou qu'ils n'aient pénétré dans les tissus qu'immédiatement après la mort, il n'en reste pas moins absolument vrai que le bactériologiste, dont le but est d'étudier le cadavre tel qu'il se présente dans les services anatomo-pathologiques, doit compter avec eux. C'est précisément cet important élément qui, il est à peine besoin d'insister, n'est pas entré suffisamment en question jusqu'à l'heure actuelle dans les constatations que l'on a faites sur le cadavre. En France et en Autriche, les délais légaux pour les autopsies sont de vingt-quatre heures après la mort. En Allemagne, les examens *post mortem* s'effectuent habituellement à un moment plus rapproché de la mort.

Or, dans nos autopsies, faites souvent de dix-sept heures à vingt heures après la mort, pendant la saison la plus froide de l'année, sur des corps très bien conservés, nous avons déjà trouvé, régulièrement, des micro-organismes dans les organes.

IV.

CONCLUSIONS.

Nous avons, comme la plupart des observateurs, noté les ressemblances et les différences entre le bacille de Gaffky et le microbe du côlon. Ces différences, si réelles qu'elles soient, ne nous ont point paru suffisantes pour justifier une séparation radicale entre ces deux agents parasitaires. S'il existe des particularités assez facilement reconnaissables, propres à l'un et à l'autre microbe, elles ne sont pas d'un ordre tel qu'elles autorisent à considérer le bacille de Gaffky et le coli-bacille comme deux espèces absolument séparées dans la nature, et aussi différenciées « que l'homme et le

singe », ainsi que le disent MM. Chantemesse et Widal (1). On peut, grâce à certains artifices de culture, supprimer la plupart, sinon tous les signes distinctifs principaux entre ces deux micro-parasites.

Quelles peuvent être les conditions qui, en dehors du laboratoire, dans la nature vivante, peuvent opérer la transformation du bacille du côlon en microbe de Gaffky?

Roux et Rodet croient que ce dernier micro-organisme représente une variété du « bacterium coli », « créée dans l'organisme typhique »; ce serait « l'organisme typhique qui, par un mécanisme que nous ne connaissons pas, donnerait au « bacillus coli » les caractères du bacille d'Eberth (2) ».

Les observateurs lyonnais n'ont émis là qu'une hypothèse dont ils n'ont pas démontré la réalité.

Apportons-nous des arguments nouveaux pour ou contre cette hypothèse?

Nous avons démontré (fait qui n'a pas été signalé par Rodet et Roux) que le « bacillus coli », et des microbes plus ou moins voisins de ce dernier, existent très fréquemment dans les organes de cadavres frais d'individus ayant succombé aux affections les plus variées. On ne comprendrait pas pourquoi ces micro-organismes ne se retrouveraient pas chez les typhoïdiques. Au contraire, chez ces derniers se trouvent réalisées des conditions qui doivent favoriser tout particulièrement la pénétration des microbes de l'intestin dans l'organisme : ce sont les ulcérations intestinales, constituant une porte d'entrée largement ouverte à l'envahissement des organes. Or, que constate-t-on dans les cas typiques de fièvre typhoïde examinés à la période d'état? Précisément l'absence des bacilles côliens et leur remplacement par des microbes de Gaffky. Pourquoi, chez ces malades, ne rencontre-t-on pas de bacilles du côlon dans les organes, alors que ces derniers se montrent si fréquemment chez les autres cadavres? N'est-ce pas justement parce qu'il s'est réalisé, chez les typhiques, un ensemble de conditions spéciales qui ont déterminé la transformation du bacille d'Escherich en microbe de Gaffky?

Si l'on admet même que les microbes côliens, observés habituellement chez les cadavres, n'y ont pas été apportés, comme

(1) *Société de biologie*, 7 novembre 1891. (*Comptes rendus*, p. 751.)
(2) *Gazette des hôpitaux*, n° 123, 1891, p. 1140.

nous le pensons, pendant la vie, mais après la mort, pourquoi cette pénétration de coli-bacilles *post mortem* ne se produit-elle pas chez les typhiques, dont les tuniques intestinales sont si particulièrement altérées?

A côté des exemples typiques de fièvre typhoïde à la période d'état, où l'on ne rencontre que le bacille de Gaffky, se place toute une série de cas montrant, à côté du bacille de Gaffky, d'autres microbes présentant tantôt les particularités du parasite d'Escherich, tantôt des propriétés intermédiaires entre le coli-bacille et le microbe de Gaffky, formant en quelque sorte une chaîne ininterrompue entre ces deux bactéries. On observe même des cas, rares il est vrai, où le microbe côlien existe seul chez les typhiques (observations de Macé, les nôtres, etc.). Tous ces faits ne tendent-ils pas à indiquer que la fièvre typhoïde est une maladie dans laquelle sont réalisées, à un degré plus ou moins considérable, suivant les cas, les conditions de transformation du microbe d'Escherich en bacille de Gaffky? A la période d'état de la fièvre typhoïde, ces conditions seraient réalisées au maximum ; de là la présence exclusive du microbe de Gaffky.

Avons-nous au moins une idée de la nature possible de ces conditions?

On sait que le résultat principal de la digestion chez les animaux supérieurs est la création d'un vaste foyer de putréfaction au sein duquel se forment continuellement des produits nuisibles. L'activité des microbes intestinaux donne sans cesse naissance à des corps de la série aromatique, tels que le phénol, le skatol, le crésol, l'indol, etc.

Si ces produits s'accumulaient, le développement des parasites du tube digestif serait bientôt entravé : c'est une loi générale en microbiologie que l'énergie vitale tend à s'arrêter par l'accumulation des sécrétions des bactéries. De plus, la présence en excès de ces principes nuisibles dans l'organisme amènerait bientôt l'intoxication de ce dernier. Il se produit, à l'état normal, une régulation telle que les sécrétions intestinales sont, au moins en partie, résorbées, franchissent l'organisme (1), où elles sont transformées

(1) BRIEGER. *Contribution à l'étude des ptomaïnes et des toxines par les bactéries pathogènes.* (*Mathemat. u. naturwissensch. Mitth.* in *Chemiker. Zeitung*, 1889, Nr 11. S. 83.)

soit par l'acide sulfurique en dérivés sulfo-conjugués, soit par l'acide glycuronique en combinaisons conjuguées également inoffensives et éliminées finalement par les urines. De la sorte, l'organisme souffre peu, et les microbes intestinaux, nullement étouffés dans leurs sécrétions, continuent leur activité fermentative normale, tout en conservant leurs caractères biologiques habituels.

Mais, à l'état pathologique, diverses circonstances altèrent profondément les conditions d'activité de ces microbes. Brieger a montré que beaucoup de maladies intestinales et d'affections fébriles sont suivies d'une élimination exagérée des produits phénoliques. Dans la fièvre typhoïde, il se produit très vraisemblablement une multiplication exagérée des microbes de l'intestin : de là l'augmentation de la quantité des produits nuisibles fabriqués (en partie du moins). Mais les processus qui, à l'état normal, tendent à annihiler l'effet nuisible pour l'organisme des sécrétions toxiques des ferments (transformation en produits inoffensifs par l'acide sulfurique, etc.), sont profondément déviés et altérés : de là l'accumulation de ces substances, favorisée et exagérée encore par les troubles, si bien connus, des organes excréteurs dans les affections fébriles, notamment la fièvre typhoïde.

Il est donc infiniment probable, pour ne pas dire certain, que ces diverses circonstances modifient considérablement les conditions d'activité des microbes présents dans l'organisme, et comme à des variations de milieu correspondent, en général, des modifications dans les caractères biologiques des bactéries, il n'est pas étonnant que celles-ci se retrouvent sous des aspects parfois tellement différents de leur état habituel, que l'on est tenté d'en faire autant d'espèces microbiennes nouvelles.

La transformation du « bacillus coli » en microbe de Gaffky, sous l'influence de diverses conditions, réalisées au maximum peut-être dans la fièvre typhoïde à la période d'état, nous apparaît donc comme un fait extrêmement probable.

Apportons-nous des preuves en faveur de cette théorie?

On se souvient que nous avons réussi à supprimer les différences entre le coli-bacille et le microbe de Gaffky par certaines cultures en milieux phéniqués : dans ces conditions, le microbe du côlon a perdu, en grande partie au moins, ses propriétés

fermentatives, celle de donner de l'indol dans les bouillons, etc.

Or, l'acide phénique, ajouté à ces cultures, est une substance appartenant précisément au groupe chimique de ces produits phénoliques (crésol, indol, skatol, etc.), qui sont au nombre des sécrétions des microbes intestinaux et dont l'accumulation au sein de l'organisme est un des phénomènes les plus habituels au cours des affections fébriles, d'origine intestinale notamment (Brieger). Cette transformation du microbe d'Escherich en un bacille semblable au parasite de Gaffky, obtenue artificiellement dans nos cultures phéniquées, ne doit-elle pas se réaliser encore plus facilement — *et sans doute d'une façon plus durable, plus profonde* — par l'accumulation de ces substances phénoliques dans l'organisme typhique, suivant le mécanisme exposé précédemment?

Les observations de divers auteurs, et notamment de Karlinski (1), sur l'absence de bacilles de Gaffky dans les selles de typhoïdiques jusqu'au neuvième, dixième et onzième jour de la maladie, leur apparition à partir de cette date seulement, n'appuient-elles pas singulièrement notre théorie? On considère généralement le typhus abdominal comme une affection ayant son origine, son point de départ dans le tube digestif. Pourquoi, dès lors, ne retrouve-t-on pas le microbe que l'on considère comme spécifique de cette affection, dès le début de la maladie, dans le tube intestinal? Pour le choléra, n'est-ce pas une des premières constatations possibles que la présence du bacille-virgule pathogène, tout au commencement de la maladie, dans les matières fécales? L'apparition tardive du bacille de Gaffky dans les sécrétions intestinales n'est-elle pas une preuve du rôle joué par l'organisme malade dans la production des caractères constatés chez le microbe? Nous n'arrivons pas à comprendre autrement ce phénomène si curieux de l'apparition tardive du microbe dit pathogène d'une affection, là où l'on devrait le retrouver d'emblée et même avant les signes anatomiques de la maladie.

D'autre part, on se souvient que sur quatre observations étudiées par nous de fièvre typhoïde bien constatée cliniquement et anatomiquement, c'est dans les cas où la maladie était en pleine évolution, avec des lésions intestinales graves et étendues, que

(1) KARLINSKI. *Centralblatt für Bakteriologie*, 1889, Bd. VI, S. 65.

nous avons rencontré le bacille de Gaffky à l'état de culture pure pour ainsi dire. Deux autres cas, à lésions beaucoup moins prononcées, plus superficielles, indiquant une maladie moins grave (quoique mortelle cependant, à la suite d'infections secondaires), ne nous ont pas montré le bacille de Gaffky, mais un microbe qu'il nous a fallu, en raison de ses caractères, identifier avec le bacille du côlon. Ces résultats n'indiquent-ils pas que, précisément chez ces typhoïdiques, les conditions opérant la transformation du coli-bacille en microbe de Gaffky, ne se sont pas réalisées au même degré que chez les malades plus gravement atteints par la dothiénentérie?

Nous savons bien que Chantemesse et Widal interprètent ces cas de fièvre typhoïde, où l'on constate la présence du coli-bacille dans les organes, par des infections secondaires venues de l'intestin. Mais ce n'est là qu'une manière de voir, une simple hypothèse dont la réalité reste à démontrer.

Évidemment, pour asseoir sur une base solide la théorie que nous proposons ici, il faudrait tout un ensemble de recherches, du plus haut intérêt scientifique, que nous n'avons pu entreprendre parce qu'elles exigent avant tout un temps extrêmement considérable, et que nous nous proposons d'ailleurs de commencer, sur les conditions de l'organisme typhoïdique, et notamment l'élimination des produits sulfo-conjugués par l'urine dans cette maladie.

Mais il se pourrait que ces modifications apportées dans la vitalité du coli-bacille et se traduisant par la transformation de ce dernier en microbe de Gaffky, fussent tout à fait spéciales à la fièvre typhoïde : il ne serait pas impossible, par exemple, que ce dernier microbe, bien que représentant par beaucoup de ses caractères une sorte de coli-bacille affaibli, dégénéré, si l'on veut (propriétés zymotiques réduites au minimum, etc.), eût acquis, d'autre part, des propriétés nouvelles, telles que celle de fabriquer certains poisons tout spéciaux; leur présence dans l'organisme provoquerait précisément les troubles observés dans la fièvre typhoïde. Les fonctions zymotiques, en d'autres termes, seraient supprimées et remplacées par des activités pathogéniques spéciales.

Il faudrait, pour démontrer la réalité de cette hypothèse,

d'abord que les poisons trouvés dans les cultures du microbe de Gaffky fussent tout à fait particuliers à cet organisme. Or, à l'époque où Brieger (1) a isolé des vieilles cultures de bacilles de Gaffky sa typhotoxine, tuant lentement les animaux, la question des relations de ce microbe avec le coli-bacille n'avait pas encore été soulevée; on n'a donc pas, au moins à notre connaissance, démontré que le « bacterium coli » n'élabore pas des substances à action semblable ou analogue. D'ailleurs, on s'est convaincu de plus en plus, au fur et à mesure des progrès de la bactériologie, que bien des bacilles, même d'espèces considérées comme banales, fabriquent de ces substances toxiques. Enfin, il semble, d'après les quelques expériences rapportées dans ce travail, que le « bacillus coli » sécrète plus de substances nocives que le microbe de Gaffky; d'ailleurs, on a toujours constaté que les cultures du bacille d'Escherich produisaient des effets plus prononcés chez l'animal (infection ou intoxication, peu importe) que le bacille dit « typhique ».

Une autre raison pour laquelle l'hypothèse de la transformation du bacille du côlon dans la fièvre typhoïde en un microbe à activités pathogéniques spéciales représenté par le bacille de Gaffky, ne nous semble pas, au moins d'après tout ce que nous savons, soutenable, c'est précisément ce fait, rapporté dans nos observations (et signalé aussi par Babes), de la présence de microbes possédant tous les principaux caractères du bacille de Gaffky chez des malades que l'on ne peut considérer comme atteints de fièvre typhoïde. Il est vrai que ces faits sont rares : on peut en conclure uniquement que les conditions de transformation du coli-bacille sont réalisées à un degré beaucoup plus grand chez les typhoïdiques; de là la présence si fréquente du bacille de Gaffky à la période d'état de la fièvre typhoïde.

Mais ce microbe peut se retrouver dans d'autres affections, qui seront précisément celles où le mécanisme régulateur de la transformation en produits inoffensifs, suivie de leur élimination, des produits nuisibles tels que les substances phénoliques, est profondément troublé.

Notre observation VIII fournit un bel exemple de ces sortes de cas. Le malade n'avait présenté aucun signe clinique de la

(1) BRIEGER. *Weitere Untersuchungen über Ptomaïne*, 1885.

fièvre typhoïde; il avait succombé à une néphrite aiguë, et l'on comprend qu'à la suite de celle-ci les processus chimiques de l'organisme fussent profondément modifiés; nous avons retrouvé une culture pure de bacilles de Gaffky dans ses organes. Nous savons bien que, dans ces cas, Chantemesse et Widal, Vincent (1), Thue (2), Banti (3) parlent de fièvre typhoïde *sans lésions intestinales.*

Mais cette opinion ne nous paraît avoir d'autre point de départ que la préoccupation de ne pas toucher à la spécificité du bacille de Gaffky : si on l'admet, il faut bouleverser complètement le cadre actuel de la pathologie interne, sur la foi d'une simple hypothèse.

En résumé, la théorie actuelle, encore généralement admise, de la spécificité du bacille de Gaffky et de son rôle typhogène, ne nous paraît pas pouvoir rendre compte des faits : elle n'est pas scientifiquement démontrée.

Si le bacille de Gaffky n'est pas, comme tel, l'agent de la fièvre typhoïde, à quel micro-organisme faut-il attribuer l'ensemble des troubles constituant la dothiénentérie?

Nous allons tâcher d'exposer quelle réponse on peut, dans l'état actuel de nos connaissances encore bien imparfaites, donner à cette question.

Chantemesse (4) définit la fièvre typhoïde : « la maladie due à la réaction de l'organisme contre l'invasion du bacille de la fièvre typhoïde ».

Cette définition ne laisse rien à désirer : si tout le monde était d'accord sur la nature du parasite qui provoque la fièvre typhoïde, elle serait parfaite. Quand on envisage, par exemple, des maladies telles que le charbon, la tuberculose, la morve, dont les agents spécifiques sont parfaitement connus, on ne peut donner de meilleure définition de ces affections qu'en y comprenant le microbe bien déterminé auquel elles sont dues.

En proposant la définition précitée, Chantemesse suppose, sans aucun doute, que la spécificité du microbe décrit par

(1) VINCENT. *Mercredi médical*, n° 46, 1891.
(2) THUE. Cité par Baumgarten : *Jahresbericht über die Fortschritte, etc.*, 1889, S. 196.
(3) BANTI. *Riforma medica*, octobre 1887.
(4) *Traité de médecine* de CHARCOT et BOUCHARD, article : *Fièvre typhoïde.*

Gaffky et si bien étudié d'ailleurs par lui-même et Widal, n'est plus discutable.

Il est nécessaire que nous reprenions l'histoire du bacille de Gaffky pour bien poser la question et discuter la valeur de l'opinion de Chantemesse.

En 1882, on avait déjà découvert et décrit les germes pathogènes de quelques maladies infectieuses : il ne semblait pas douteux que la fièvre typhoïde ne dût aussi être provoquée par la pullulation dans l'organisme d'un microbe tout particulier. Déjà Koch, Eberth avaient vu, dans les lésions typhoïdiques, des bacilles un peu spéciaux. Eberth affirmait même ne pas les avoir rencontrés dans d'autres affections; il est vrai qu'il ne les avait trouvés que dans la moitié des cas de fièvre typhoïde.

Gaffky (1) reprit cette étude : il fut assez heureux pour déceler dans les organes des typhiques de petits amas bacillaires, groupés d'une certaine façon, ne se retrouvant pas, disait-il, dans d'autres affections. Non content de constater, par le microscope, ces agrégats de microbes, Gaffky appliqua à l'étude des cadavres typhiques l'excellente méthode des cultures sur plaques de gélatine, qui venait de rendre tant de services à Koch et à ses élèves. Il découvrit qu'il existait chez la plupart des typhisés à la période d'état, un bacille dont il décrivit la mobilité, l'aspect des cultures en gélatine, gélose, sérum, sur pommes de terre. Ces dernières, lui sembla-t-il, étaient tellement caractéristiques qu'elles constituaient le critérium par excellence du diagnostic de ce microbe.

D'autres observateurs, et à leur tête Chantemesse et Widal (2), reprirent cette étude et la complétèrent. Ces derniers apportèrent même à l'histoire du bacille typhique un élément très important par la constatation qu'ils firent de sa présence chez les typhiques à la période d'état, sur le vivant, par des ponctions de la rate.

Tous les auteurs reconnaissaient qu'il était impossible de démontrer la spécificité du bacille de Gaffky par des inoculations chez l'animal : celles-ci, d'ailleurs, devaient forcément rester muettes, la fièvre typhoïde étant spéciale à l'espèce humaine.

Mais, en raison des caractères tout particuliers de ce microbe,

(1) *Loc. cit.*
(2) *Loc. cit.*

de sa présence si fréquente chez les typhiques, on n'hésita pas à voir une relation de cause à effet entre les bacilles et la maladie. Gaffky, notamment, établissait la spécificité du microbe en se basant sur les principaux arguments suivants :

1° Le groupement des microbes en petits amas dans les organes est absolument spécial à la fièvre typhoïde ; les microbes de la putréfaction sont irrégulièrement disséminés dans les tissus ;

2° Ce bacille ne se retrouve que chez les typhiques.

Mais quand on lit le grand travail de Gaffky, on reste surpris de constater qu'en parlant de l'absence de microbes semblables à son bacille chez des personnes mortes à la suite d'autres affections que la fièvre typhoïde, l'auteur a basé son assertion uniquement sur les résultats de l'examen microscopique des coupes d'organes. Nous citons textuellement (1) :

« Es braucht wohl kaum noch erwähnt zu werden dass in den Organen an anderen Krankheiten Verstorbener bei den ausserordentlich zahlreichen, im Gesundheitsamt angestellten Untersuchungen auch nur ähnliche Bacillenherde niemals angetroffen worden sind. »

Mais il faut remarquer, disions-nous, que c'est à propos de l'examen microscopique des coupes d'organes typhiques que Gaffky fait cette constatation. Nulle part, nous n'avons lu dans son mémoire qu'il eût recherché, *par la méthode bien plus importante des cultures,* si des microbes plus ou moins semblables à son bacille ne se retrouvaient pas dans des affections différentes du typhus abdominal. Or, Gaffky reconnaît que, même pour les organes des typhisés, l'examen microscopique ne donne pas toujours des résultats positifs : il faut absolument le critérium des cultures. Dès lors, on ne comprend guère comment Gaffky a pu affirmer l'absence de son bacille dans d'autres maladies que la dothiénentérie, alors qu'il n'avait pas appliqué à cette recherche la méthode la plus sûre pour le rencontrer.

Quant à son opinion concernant l'aspect caractéristique des foyers bacillaires, Artaud (2) a montré, il y a déjà longtemps, que les microbes de la putréfaction pouvaient se présenter de cette façon.

(1) Page 381.

(2) Cité d'après GASSER : *Le bacille typhique.* (*Archives de médecine expérimentale,* 1890, p. 118.)

Malgré les lacunes de sa démonstration, l'opinion de Gaffky sur la spécificité absolue de son bacille fut généralement admise par les bactériologistes.

Mais au moment où Gaffky publia ses observations classiques (1), on connaissait fort peu un microbe dont l'importance ne se révéla que beaucoup plus tard, le « bacterium coli commune » d'Escherich. Le travail de cet auteur est postérieur en date à celui de Gaffky (2). Escherich trouva que ce micro-organisme, présentant les caractères que nous avons longuement décrits, était un des hôtes habituels du tube digestif. Tous ceux qui étudièrent cet agent parasitaire furent frappés de ses ressemblances avec le microbe de Gaffky : certes, il existait un ensemble de détails de culture permettant de les distinguer l'un de l'autre ; mais on avait appris à se mettre en garde contre la tendance trop prononcée à séparer toujours, d'une façon absolue, des micro-organismes qui ne se comportaient pas de la même façon dans les milieux de culture usuels. Et ainsi se posa bientôt la question si importante du degré de parenté du « bacterium coli » avec le microbe de Gaffky.

Gaffky ne s'était-il pas trop avancé quand il avait affirmé que son micro-organisme était tellement caractéristique, tellement spécial à la fièvre typhoïde, qu'il n'était pas possible de l'identifier avec aucune autre espèce microbienne, et qu'on devait le considérer comme l'agent spécifique de la fièvre typhoïde (3)?

Aux deux savants lyonnais Rodet et Roux revient l'honneur d'avoir exprimé, les premiers, les doutes qui s'étaient fait jour déjà depuis longtemps dans l'esprit d'un grand nombre de bactériologistes, et d'avoir placé la question sur son véritable terrain.

Malheureusement, les travaux de Rodet et Roux furent extrêmement sobres de détails : l'absence de renseignements circon-

(1) Le mémoire de Gaffky est daté de février 1883.

(2) Escherich. *Die Darmbakterien des Säuglings*, Stuttgart, 1886.

(3) Voici comment Gaffky s'exprime (p. 397) :

« Beim Abdominaltyphus regelmässig eine wohl charakterisirte Form von Mikroorganismen findet, welche bei anderen Krankheitsprocessen niemals vorkommt — und an dieser Thatsache ist nach den bis jetzt vorliegenden Untersuchungen wohl kaum noch zu zweifeln — dürfen wir diese Organismen mit so ziemlich der gleichen Berechtigung als die Krankheitsursache ansehen, wie dies heute mit den Spirochäten für das Rückfallfieber und den Leprabacillen für den Aussatz der Fall ist. »

stanciés sur la façon dont ils avaient obtenu les résultats annoncés, explique les résistances que leur opinion rencontra chez beaucoup de savants. Nous croyons avoir montré que la thèse soutenue par Rodet et Roux repose sur des bases plus solides que la théorie adverse défendant la spécificité du microbe de Gaffky. Ce dernier apparaît bien plutôt comme un produit de la maladie typhique que comme l'agent pathogène de celle-ci. Nous ne reviendrons pas sur les arguments que nous avons invoqués ailleurs, et exposés longuement, en faveur de cette manière de voir (1).

La question se pose maintenant de la détermination du véritable agent typhogène.

Roux et Rodet inclinent à croire que ce microbe n'est autre que le « bacterium coli commune », et, dans une importante communication au Congrès international d'hygiène de Londres, le professeur Arloing (2), se faisant le porte-voix des deux bactériologistes lyonnais, déclarait, en leur nom, que le bacille d'Escherich devait être considéré comme le véritable microbe typhique.

Les principaux arguments invoqués en faveur de cette thèse

(1) Nous avons passé sous silence, à dessein, un ensemble de faits dont la constatation avait été invoquée, notamment par MM. Chantemesse et Widal, en faveur de la spécificité parasitaire du bacille de Gaffky (*), *la présence dans l'eau potable, cause de plusieurs épidémies, de ce microbe.* Qu'il y ait une relation très fréquente entre l'ingestion d'une eau de boisson et le développement de la fièvre typhoïde, on ne peut guère en douter, après les nombreux exemples observés de tant de côtés et que nous confirmerons à nouveau dans une prochaine publication.

Mais quelle est la nature de l'agent contagieux transporté par les eaux? Ce n'est pas parce que l'on trouve le bacille de Gaffky dans une eau de boisson que l'on est autorisé à conclure à la spécificité pathogénique de ce microbe. Si, comme nous le pensons, ce microbe est le résultat de la maladie, il est évident que la nappe aquifère, si elle est en communication avec des foyers de matières fécales, pourra recevoir, à un moment donné, les bacilles éliminés par les malades. Comme le dit Arnould, c'est la fièvre typhoïde qui paraît mettre ces bacilles dans l'eau, bien plus que ces microbes n'engendrent, comme tels, la fièvre typhoïde.

Nous avons analysé très fréquemment (trente fois environ) de l'eau provenant de maisons où avaient éclaté des cas de fièvre typhoïde. Nous avons retrouvé parfois (dans quatre cas) le bacille d'Eberth-Gaffky, bien plus souvent (neuf fois) le « bacterium coli ». Qu'en conclure? *Tout en déclarant ces eaux fort suspectes,* on ne pourrait actuellement faire état de ces constatations *dans un débat scientifique,* pour prouver le rôle typhogène de l'un ou l'autre des microbes, tant que l'on n'aura pas démontré, par d'autres arguments, quel est le véritable agent de la fièvre typhoïde.

(2) *Semaine médicale,* n° 42, 1891.

(*) *Archives de physiologie. Loc. cit.,* p. 224.

étaient la présence, presque à l'état de pureté, du « bacillus coli » dans les selles de typhoïdiques, et la découverte du bacterium d'Escherich, en l'absence du microbe de Gaffky, dans des eaux accusées d'avoir contenu le germe de plusieurs épidémies typhoïdes.

Il est possible que le « bacterium coli » soit l'agent pathogène de la dothiénentérie, et nous pensons, pour notre part, que ce micro-organisme est bien la cause du typhus. Ce microbe est loin d'être un parasite banal, et on a eu tort, pendant longtemps, de le considérer comme un simple saprophyte sans importance pathogénique chez l'homme. On sait aujourd'hui, par de nombreuses observations, que le coli-bacille peut provoquer des péritonites (Laruelle, nous-même, Fränkel), des angiocholites (Charrin), des méningites (Chantemesse et Widal), certains choléras nostras (Girode), et même des affections des voies urinaires (Achard, Morelle, etc.).

Ces diverses modalités pathogéniques, bien connues aujourd'hui, du « bacillus coli » ne constituent certainement pas toutes les activités morbides qu'il est susceptible de manifester, et il est bien possible que le bacterium d'Escherich, grâce à certaines modifications de virulence, d'une part, du terrain humain de l'autre, puisse provoquer l'apparition du typhus abdominal, prenant peu à peu, en traversant l'organisme malade, les caractères du bacille de Gaffky.

Cette théorie, si elle va à l'encontre de certaines idées chères aux hygiénistes partisans absolus de la contagion *opérant dans tous les cas*, permet de comprendre certains faits, bien difficiles à expliquer autrement, de création d'un foyer typhique en dehors de la présence antérieure d'un malade. A l'heure actuelle, beaucoup d'hygiénistes professent qu'une fièvre typhoïde vient toujours d'une fièvre typhoïde, ou, en d'autres termes, que pour faire de la fière typhoïde, il faut de la fièvre typhoïde. On est souvent bien embarrassé pour expliquer, au moyen de cette théorie, certains cas, rares il est vrai, mais réels, d'apparition du typhus abdominal chez des individus et dans des localités sans relation aucune avec le reste du monde. Ainsi l'on a vu apparaître des cas de fièvre typhoïde (1) chez des militaires en marche dans le

(1) Kelsch. *De la fièvre typhoïde dans les milieux militaires.* (*Revue d'hygiène*, 1890.)

désert, ayant quitté depuis de longs mois leurs garnisons d'origine. Les partisans de la spécificité du microbe de Gaffky sont obligés, pour expliquer ces faits, d'admettre le séjour prolongé, à l'état latent, dans le tube digestif, de ce parasite introduit pendant le séjour dans les garnisons supposées contaminées. Ne pourrait-on pas, avec plus de raison, expliquer ces cas par la détérioration imprimée à l'organisme grâce au surmenage, à la mauvaise alimentation, à toutes les conditions défavorables des troupes en marche, troubles suffisants pour permettre la transformation d'un germe, d'ordinaire inoffensif dans l'intestin, en agent pathogène?

La possibilité du développement d'une infection par un microbe que tout le monde porte en soi, même à l'état normal, n'est du reste pas du domaine des faits nouveaux. Il est démontré que les germes de la pneumonie, de l'érysipèle, de la fièvre puerpérale, pour ne citer que ceux-là, se trouvent normalement sur les muqueuses de beaucoup de personnes, vivant là à l'état de parasites indifférents, ne développant leur action pathogénique qu'à la suite de modifications spéciales du terrain organique. La pneumonie, maladie infectieuse, est très souvent d'origine intrinsèque. Pourquoi ne pourrait-il en être de même pour la fièvre typhoïde? Aussi ne comprenons-nous guère l'émoi provoqué chez certains bactériologistes par la théorie de Rodet et Roux, qui applique à la genèse de la fièvre typhoïde des idées dont la réalité a été démontrée et est admise pour d'autres maladies.

Comment s'expliquerait, dans cette théorie, la CONTAGION? *Il est bien entendu que celle-ci reste absolument debout : on ne prétend pas que la fièvre typhoïde soit toujours d'origine intrinsèque; au contraire, cette dernière ne se rencontrerait que dans la grande minorité des cas; le plus souvent, surtout en temps d'épidémie, les cas se multiplieraient grâce à des causes de contagion.* Le « bactérium coli » devenu, sous l'influence de causes inconnues, agent typhogène, serait éliminé avec les excreta du malade, et irait, soit par l'air, soit, plus vraisemblablement, par les eaux, les linges, etc., contaminer les autres personnes.

Il faut bien remarquer, — et c'est là un argument en faveur de l'origine possible de *certains cas* de fièvre typhoïde en dehors d'une contagion venue de l'extérieur, — que les grandes améliorations réalisées dans des villes telles que Francfort et Vienne, au point de vue de l'hygiène publique, si elles ont fait diminuer

considérablement les cas de fièvre typhoïde, ne les ont pas supprimés complètement En assurant la distribution d'une eau non polluée et l'évacuation des matières excrémentitielles, *on a supprimé un grand nombre, sinon la plupart des conditions favorisant la propagation des germes typhiques*, mais on a continué à observer de-ci, de-là des cas de typhus abdominal : ce sont probablement ces cas qui sont dus, au moins en partie, au développement dans le tube digestif, grâce à certaines circonstances inconnues, de germes qui y vivent à l'état normal et qui se transforment en agents pathogènes. Mais les conditions favorisant le transport de ces germes virulents aux autres personnes faisant défaut, la maladie ne devient pas épidémique.

Cependant, il faut l'avouer, si séduisante que soit la théorie qui considère le « bacterium coli commune » comme l'agent de la fièvre typhoïde, elle restera une pure hypothèse tant que l'on n'aura pas déterminé *quels sont les changements imprimés à l'activité de ce microbe pour en faire un microbe typhogène.* En effet, la présence du « bacterium coli », avec les caractères généraux que nous lui connaissons plus ou moins altérés, est tellement fréquente dans les organes de cadavres les plus divers, *qu'il faut absolument découvrir à ce microbe des propriétés nouvelles et particulières pour pouvoir le caractériser comme micro-organisme typhique.* Nous ne possédons à cet égard qu'une donnée d'une certaine importance : Vallet (1) aurait observé que le « bacterium coli » exalte sa virulence en passant par le sol. C'est là une indication qui peut-être ouvrira la voie à des recherches fructueuses : on ne peut s'empêcher, notamment, de se rappeler, à propos de cette constatation, quel rôle important Pettenkoffer fait jouer au sol dans la maturation du germe typhique.

Quant aux arguments invoqués par Roux et Rodet en faveur de l'action typhogène du « bacterium coli », savoir la présence exclusive de ce microbe dans les selles des typhoïdiques et dans certaines eaux ayant provoqué des épidémies, ces raisons ne sont pas de nature à emporter facilement la conviction.

En effet, Bard et Aubert (2) disent avoir constaté, pendant le cours des affections fébriles (tuberculose, pneumonie, typhus

(1) Congrès international d'hygiène de Londres. (*Semaine médicale*, n° 42, 1891, p. 350.)

(2) Bard et Aubert. *De l'influence de la fièvre sur le « bacillus coli »*. (*Gazette hebdomadaire de médecine*, n°s 5 et 35, 1891.)

abdominal), la disparition d'un grand nombre des espèces microbiennes de l'intestin : les cultures ne fournissent plus guère que le « bacterium coli commune ». Le développement de ce microbe dans le tube digestif, à l'exclusion des autres microparasites, serait plutôt le fait de la maladie fébrile.

Quant à la présence du « bacterium coli », en l'absence de bacilles d'Eberth, dans des eaux considérées comme ayant provoqué l'apparition d'une épidémie typhique, si ce fait prouve peu en faveur du rôle pathogène du microbe d'Eberth-Gaffky, on ne peut pas en conclure que le coli-bacille soit l'agent typhique : ce résultat prouve qu'il existait des communications entre la nappe aquifère et des foyers de matières fécales,— *et cette constatation suffit déjà pour rendre le liquide très suspect et le considérer comme impropre à la consommation*, — mais il faut bien avouer que ces faits, *à eux seuls*, ne suffiraient guère pour démontrer le rôle typhogène du microbe d'Escherich.

Nous avons tenu à exposer aussi bien les arguments qui plaident en faveur de la thèse de Roux et Rodet sur le rôle typhogène du « bacterium coli », que les lacunes de la théorie. De la même façon, nous avons développé les nombreuses objections que l'on peut faire à la théorie de Gaffky, et émis l'opinion motivée que la conception du bacille décrit par ce savant comme germe typhogène *spécifique* est loin de reposer sur une base inébranlable.

Si nous avons réussi à montrer combien ces problèmes apparaissent compliqués et ardus quand, se dégageant de toute opinion préconçue, de toute attache d'école, on ne demande qu'aux faits la réponse aux questions posées ; si nous sommes parvenu à faire voir combien il est difficile, au moyen de la conception simpliste du bacille, généralement considéré encore comme l'agent spécifique de la fièvre typhoïde, d'interpréter les constatations faites à la table d'autopsies, nous nous croirons déjà suffisamment récompensé des efforts que nous nous sommes imposé pour réaliser le plan tracé en tête de ce travail.

Liége, janvier 1892.

TABLE DES MATIÈRES.

Pages.

INTRODUCTION 3

CHAPITRE Ier. — PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DU BACILLE DE GAFFKY ET DU « BACTERIUM COLI COMMUNE ».

A. — Morphologie et coloration. 6
B. — Cultures :
1° Sur gélatine nutritive alcalinisée 12
2° Sur gélose nutritive alcalinisée. 16
3° Sur pommes de terre 17
4° Sur bouillons alcalins 20
5° Sur milieux sucrés, propriétés zymotiques. 22
a. Cultures en bouillons sucrés. 23
b. Cultures sur lait 25
c. Cultures sur milieux maltosés 26
6° Cultures en milieux phéniqués. 27
7° Anaérobiose 28
8° Inoculations aux animaux, produits sécrétés. 28
Conclusion 32

CHAPITRE II. — VARIATIONS BIOLOGIQUES DU « BACTERIUM COLI ».

1° Cultures en bouillons phéniqués 36
2° Vieillissement des cultures. 40
3° Action de la chaleur. 41
4° Passage par l'organisme animal sain 43
5° Passage par l'organisme animal fébricitant 43

CHAPITRE III. — RECHERCHES BACTÉRIOLOGIQUES SUR LES CADAVRES. 46

Conclusions de l'étude bactériologique de cadavres divers 70

CHAPITRE IV. — Conclusions générales 73